

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS,
MATEMÁTICAS, FARMACIA e INFORMATICA



**“Evaluación del Efecto Antiespasmódico del
Extracto Hidroalcohólico y del Aceite Esencial de
Artemisia absinthium L. (Ajenjo) In Vivo y Ex
Vivo”**

**Tesis para optar al Título Profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO.**

Presentado por:

Br. SUSAN MERIDA ACHAHUI VILCA.

Br. PATRICIA QUISPE QUISPE.

ASESORA:

MCs. MAGALY VILLENA TEJADA.

CO- ASESOR:

Ph.D JOSE ANTONIO VILLANUEVA
SALAS.

CUSCO – 2011

Tesis Auspiciada por el Consejo de investigación de la UNSAAC

RESUMEN

Artemisia absinthium L. (Ajenjo), es utilizado en la medicina tradicional en cólicos intestinales. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. El tipo de estudio fue cuasiexperimental.

Se evaluó el efecto antiespasmódico por un modelo in vivo para medir la actividad sobre el tránsito intestinal, y un modelo ex vivo en íleon aislado de cobayo sobre las contracciones basales y frente a la acción de la acetilcolina.

El análisis fitoquímico del extracto reveló la presencia de alcaloides, glicósidos, taninos, resinas, saponinas, lactonas y azúcares reductores. El análisis de GC-MS del aceite esencial muestra como metabolitos mayoritarios: linalol, β – tujona, α – tujona, Oxirane, 2-(Hexyn-1yl)-3 methoxymethylene, myrtenyl acetate.

Los resultados en el modelo in vivo donde se evaluó el porcentaje de avance del marcador (carbón activado) para el extracto a las dosis de 600mg/kg con 38.8%, 800mg/Kg con 47.9% y 1000mg/Kg con 46.1% en promedio mucho menores que el grupo control (solución salina fisiológica) 84.7%. Para el aceite esencial 2mg/kg con 39.8%, 1mg/Kg con 43.5% y 0.5mg/Kg con 54.9% menores que el grupo control (solución tween 1%) 85.5%. Para el fármaco patrón (atropina 1mg/Kg) con porcentaje de avance de 19.9%, con significancia 0.000 a un nivel de confianza del 95%.

Los resultados del efecto sobre las contracciones basales de íleon aislado de cobayo donde se evaluó el porcentaje de inhibición para el extracto a las concentraciones de 900 μ g/mL con 91.3%, 1200 μ g/mL con 90.7% y 1500 μ g/mL con 93.4%; para el aceite esencial a las concentraciones de 0.05mg/mL de 50.6%, 0.1mg/mL de 76.2% y 0.2mg/mL de 90.1%, para el fármaco patrón atropina a la concentración 0.03mg/mL con 92.4% y para el grupo control 0.8%, con significancia 0.000 a un nivel de confianza del 95%.

Frente a las acción de la acetilcolina se evaluó la máxima amplitud después de la adición de acetilcolina, para el extracto a las concentraciones de 900 μ g/mL de 11.3mV, 1200 μ g/mL de 10.5mV, y 1500 μ g/mL de 10mv; para el aceite esencial a las concentraciones de 0.05mg/mL de 9.7mV, 0.1mg/mL

de 3.6mV y 0.2mg/mL de 1.6mV; para el fármaco patrón atropina a la concentración 0.03mg/mL de 0.4mV y para el grupo control de 16.2mV. , con significancia 0.000 a un nivel de confianza del 95%. Con los resultados obtenidos se concluye que el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico al 70% de de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" presentan efecto antiespasmódico in vivo y ex vivo.

Palabras clave: Ajenjo, aceite esencial, extracto hidroalcohólico, antiespasmódico, acetilcolina, atropina, in vivo, ex vivo

SUMMARY

Artemisia absinthium L. (Wormwood), is used in traditional medicine for cramps. The aim of this study was to determine the antispasmodic effect of 70% hydroalcoholic extract and essential oil of *Artemisia absinthium* L. by an in vivo model to measure activity on intestinal transit, and an ex vivo model in ileum isolated of Guinea pig on the basal contractions and against to acetylcholine.

Phytochemical analysis of the extract showed the presence of alkaloids, glycosides, tannins, resins, saponins, lactones and reducing sugars. GC-MS analysis of essential oil showed like main constituents: linalool, β - thujone, α - thujone, Oxirane, 2 - (Hexyn 1yl) - 3 methoxymethylene, myrtenyl acetate. The results in vivo model that assessed the percentage of completion of the marker (activated carbon) for the extract at doses of 600mg/kg with 38,8 %, 800mg/Kg with 47,9 % and 1000mg/Kg with 46,1 % on average much lower than the control group (saline physiological solution) 84,7 %. For essential oil at 2mg/kg with 39,8 %, 1mg/Kg with 43,5 %y 0.5mg/Kg with 54,9 % with less than the control group (Tween solution 1%) 85,5 %. For the standard drug (atropine 1mg/kg) with percentage of completion of 19.9%.

The results of the effect on basal contractions of guinea pig isolated ileum which assessed the percentage of inhibition for the extract concentrations 900 μ g/mL with 91.3%, 1200 μ g/mL with 90.7% and 1500 μ g/mL with 93.4% for essential oil concentrations 0.05mg/mL with 50.6%.

Faced with the action of acetylcholine was assessed the maximum amplitude after the addition of acetylcholine to the extract 1mg/mL with 76.2% and 0.2mg/mL with 90.1% for the standard drug atropine concentration 0.03mg/mL with 92.4% and the control group 0.8%. concentrations of 900 μ g/mL with 11.3mv, 1200 μ g/mL with 10.5mv and 1500 μ g/mL with 10mV; for oil essential concentrations of 0.05mg/mL with 9.7mv , 0.1mg/mL with 3.6mv and 0.2mg/mL 1.6mv, for the drug standard drug atropine concentration 0.03mg/mL with 0.4mv and the control group 16.2mv. The statistical analysis was obtained by the ANOVA test, followed by the Duncan's test where necessary, at significant 0.000.

With these results we conclude that the essential oil and hydroalcoholic extract 70% of *Artemisia absinthium* L. "Wormwood" have antispasmodic effect in vivo and ex vivo.

Key words: Wormwood, essential oil, hydroalcoholic extract, antispasmodic, acetylcholine, atropine, in vivo, ex vivo.

DEDICATORIA

A HILARIO Y MAXIMILIANA, MIS
PADRES, POR HABERME DADO
UNA HERMOZA FAMILIA POR
TODO SU AMOR Y
DEDICACIÓN.

A ELIZABETH, MARTHA, YONY,
MERCEDES, GLADIS. MIS
HERMANAS POR HABERME
CUIDADO CON TANTO AMOR Y
DEDICACIÓN.

A CARLOS, HILARIO, RODDY,
JERONIMO, RÓMULO, ANGEL.
MIS QUERIDOS HERMANOS POR
TODA SU PROTECCIÓN
BRINDADA DESDE SIEMPRE.

A MIS TÍOS CIRILO Y SERGIO
POR SU COMPAÑÍA Y APOYO
EN LOS MOMENTOS DIFÍCILES.

A MIS SOBRINAS Y SOBRINOS
QUE SON MI PRINCIPAL
INSPIRACIÓN.

PATRICIA.

DEDICATORIA

A Dios mi guía quien me enseñó no tener una idea equivocada de la felicidad real, que no se obtiene buscando nuestra propia gratificación, sino a través de nuestra fidelidad a una causa que tenga significado.

A mis padres Ernesto y Marcia por su apoyo incondicional, quienes me enseñaron muchos valores entre ellos la integridad, que al igual que un faro marino señala la dirección que deben seguir las embarcaciones en la oscuridad, nuestros valores orientan nuestras acciones en la penumbra de estas épocas turbulentas en que vivimos. El problema es que, a veces, hay tanta niebla que no llegamos a ver el faro.

A mi hermanito Cesar, mis hermanas Miriam y Jimena por su comprensión y su apoyo en los momentos buenos y malos en mi vida.

A todos mis amigos y amigas quienes me ayudaron y animaron a seguir en este camino y gracias por su ayuda incondicional.

Susan.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad san Antonio Abad del cusco, por habernos acogido y ayudarnos a cumplir esta gran meta.

Al instituto de investigación de la Universidad San Antonio abad del Cusco por su apoyo y colaboración económica.

A nuestros docentes quienes compartieron sus conocimientos y experiencias para contribuir en nuestra formación profesional.

A nuestra asesora Mcs Magaly Villena Tejada por su confianza y su apoyo incondicional durante el desarrollo del presente trabajo y durante nuestra formación universitaria.

A nuestro coasesor PhD Jose Antonio Villanueva Salas por su tiempo, su apoyo incondicional en el desarrollo experimental de este trabajo.

A nuestros docentes Mgt. Carlos Serrano Flores y Yaneth Gonzales por el apoyo brindado en el desarrollo experimental de esta investigación.

A la Universidad Católica Santa María de Arequipa por brindarnos las instalaciones de y quipos de la Carrera Profesional Farmacia y Bioquímica para la ejecución de la parte experimental ex vivo.

A nuestros amigos Yanet Huachaca, Verónica Rondan, Cesar Coque, Nancy Huaman, Fredy Nina, Hugo, por su apoyo y tiempo en el desarrollo de esta investigación.

A nuestros dictaminantes Mcs. Carla del Carpio Jimenez, Q.F. Ingrid Vera Ferchau, Dr. Nerio Gongora Amaut por sus recomendaciones para la mejora del presente trabajo de investigación.

Tenemos que agradecer a cada una de las personas que estuvieron en el largo camino de nuestra formación profesional, por sus consejos y confianza depositada en nosotras.

Susan y Patricia.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	2
1. GENERALIDADES	3
1,1 Planteamiento del Problema	3
1,2 Formulación del Problema.....	4
1,3 Objetivos.....	4
1.3.1 Objetivo General.....	4
1.3.2 Objetivos Específicos.....	4
1,4 Justificación.....	5
1,5 Hipótesis.....	5
CAPITULO II	6
2. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	7
2,1 Antecedentes.....	7
2.1.1 Antecedentes Etnobotánicos de <i>Artemisia</i> <i>absinthium</i> L.	7
2.1.2 Antecedentes de Estudios Fitoquímicos.....	8
2.1.3 Antecedentes de Estudios Farmacológicos.....	10
2.1.3.1 Antecedentes Locales.....	10
2.1.3.2 Antecedentes Nacionales.....	11
2.1.3.3 Antecedentes Internacionales.....	13
2.1.4 Antecedentes Toxicológicos.....	23
2,2 Bases Teórico Científicas.....	24
2.2.1 Aspectos Botánicos de la Especie.....	24
2.2.1.1 Identificación Botánica.....	24
2.2.1.2 Descripción Botánica.....	24
2.2.1.3 Usos Populares.....	26
2.2.2 Intestino y Motilidad	26
2.2.2.1 Consideraciones Anatómicas.....	26
2.2.3 Inervación Extrínseca.....	29
2.2.4 Inervación Intrínseca - Sistema Nervioso Entérico.....	29
2.2.5 Drogas Parasimpaticolíticas o Anticolinérgicas.....	30
2.2.5.1 Atropina	31
Mecanismo de Acción	31
Atropina Sulfato.....	32
2.2.6 Drogas Parasimpaticomiméticas o Colinérgicas	34
2.2.6.1 Mecanismo de Acción	35
2.2.6.2 Acetilcolina	36
2.2.7 Sistema Receptor Colinérgico	38
2.2.7.1 Receptores Muscarínicos.....	38
2.2.7.2 Receptores Nicotínicos.....	40
2.2.8 Alteraciones de la Motilidad.....	41
2.2.9 Dolor Abdominal	43
2.2.10 Tipos de Compuestos Antiespasmódicos	44
2.2.11 Equipo de Organos Aislados	45
2.2.11.1 Baño de Órganos	45
2.2.11.2 Sistema Powerlab.....	49

2,3 Glosario	51
CAPITULO III	53
3. MATERIALES MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS	54
3,1 Materiales.....	54
3,2 Diseño Metodológico	57
3.2.1 Tipo de Estudio	57
3.2.2 Variables de Estudio	59
3.2.2.1 Variables Implicadas.....	59
Variables Independientes	59
Variables Dependientes	60
3.2.2.2 Variables no Implicadas.....	64
3.2.2.3 Criterios de Inclusión y Exclusión	64
3,3 Procedimiento	67
3.3.1 Preparación de la Planta	68
3.3.1.1 Recolección de la especie vegetal	68
3.3.1.2 Secado	68
3.3.1.3 Selección	68
3.3.1.4 Molienda y Conservación	68
3.3.2 Determinación del Porcentaje de Humedad	68
3.3.3 Obtención del Extracto hidroalcohólico	69
3.3.4 Pruebas de Solubilidad	69
3.3.5 Análisis Fitoquímico Cualitativo	69
3.3.6 obtención del Aceite por Arrastre con Vapor	69
3.3.6.1 Porcentaje de Rendimiento del Aceite Esencial.....	70
3.3.7 Análisis Físico- Químico del Aceite Esencial	70
3.3.7.1 Características Organolépticas	70
3.3.7.2 Ensayos Físicos	71
3.3.7.2.1 Índice de Refracción	71
3.3.7.2.2 Pruebas de Solubilidad del Aceite Esencial.....	71
3.3.7.3 Ensayos Químicos	72
3.3.7.3.1 Índice de Acidez	72
3.3.7.3.2 Índice de Saponificación	72
3.3.7.3.3 Índice de Ester	73
3.3.8 Análisis Cromatográfico de Gases	73
3.3.9 Estudio Farmacológico	74
3.3.9.1 Determinación del Efecto Antiespasmódico por Medición del Tránsito Intestinal	74
3.3.9.2 Determinación del Efecto Antiespasmódico en Íleon Aislado de Cobayo	77
3.3.10 Análisis Estadístico	81
CAPITULO IV	82
4. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	83
4,1 Ensayos Preliminares	83
4.1.1 Determinación del Porcentaje de Humedad	83

4.1.2	Resultados de las Pruebas de Solubilidad del Extracto Hidroalcohólico al 70% y del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo).....	84
4.1.3	Resultado del Porcentaje de Rendimiento del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.	85
4.1.4	Resultados del Análisis Físico-Químico del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	86
	Características Organolépticas	86
	Determinación de la Densidad	86
	Determinación del Índice de Refracción	86
	Índice de Ester	86
	Índice de Acidez	86
	Índice de Saponificación	86
4,2	Análisis Fitoquímico.....	88
4.2.1	Resultados del Análisis Fitoquímico Cualitativo del Extracto Hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L.	88
4.2.2	Resultados del Análisis Cromatográfico de Gases y Espectroscopía de Masas (GC-MS) del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.	90
4,3	Resultados del Efecto Antiespasmódico IN VIVO	93
4.3.1	Resultados del Efecto Antiespasmódico del Extracto Hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. por el Método de Tránsito Intestinal	93
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	94
4.3.2	Resultados del Efecto Antiespasmódico del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. por el Método de Tránsito Intestinal	98
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	99
4,4	Resultados del Efecto Antiespasmódico EX VIVO	102
4.4.1	Resultados del Efecto Antiespasmódico del Extracto Hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. sobre la Amplitud de las Contracciones Basales de Íleon Aislado de Cobayo	102
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	102
4.4.2	Resultados del Efecto Antiespasmódico del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. sobre la Amplitud de las Contracciones Basales de Íleon Aislado de Cobayo	106
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	106
4.4.3	Resultados de la Respuesta del Extracto Hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L. en Íleon Aislado de Cobayo frente a la Inducción por Acetilcolina	110
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	110
4.4.4	Resultados de la Respuesta del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. en Íleon Aislado de Cobayo Frente a la Inducción por Acetilcolina	114
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	114

CONCLUSIONES	118
SUGERENCIAS	120
BIBLIOGRAFÍA	121
ANEXOS	130

INDICE DE FIGURAS

N° 2.1	Ajenjo.....	24
N° 2.2	Estructura de Atropina.....	32
N° 2.3	Estructura de Acetilcolina.....	36
N° 2.4	Pasos Básicos de la Neurotransmisión Colinérgica.....	38
N° 2.5	Esquema de los Elementos Necesarios para la Realización de un Experimento con Órgano Aislado....	46

INDICE DE CUADROS

N°2.1	Algunas Propiedades Farmacológicas de los Colinésteres.....	35
N°3.1	Resumen de Variables.....	66
N°4.1	Porcentaje de Humedad de las Partes Aéreas de <i>Artemisia absinthium</i> L.	83
N°4.2	Resultados de las Pruebas de Solubilidad	84
N°4.3	Porcentaje de Rendimiento del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	85
N°4.4	Características Organolépticas del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	86
N°4.5	Resultados de Análisis Físico-Químico del Aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	86
N°4.6	Resultados del Análisis Fitoquímico del Extracto Hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L.	88
N°4.7	Composicion del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	90
N°4.8	Resultados del Efecto Antiespasmódico del Extracto Hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L.por el Metodo del Tránsito Intesinal en Ratonos	93
N°4.9	De las Medias, Desviación Típica, Mínimos y Máximos del Porcentaje de Avance del Extrato Hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	94
N°4.10	Análisis de Varianza del Porcentaje de Avance del Extrato Hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	94
N°4.11	Prueba de Duncan del Porcentaje de Avance del Extrato Hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	94
N°4.12	Resultados del Efecto Antiespasmódico del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. por el Metodo del Tránsito Intesinal en Ratonos Albinos.....	98
N°4.13	Cuadro de las Medias, Desviación Típica, Mínimos y Máximos del Porcentaje de Avance del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	99
N°4.14	Análisis de Varianza del Porcentaje de Avance del Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	99
N°4.15	Prueba de Duncan del Porcentaje de Avance del Extrato Hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	99

N°4.16	Porcentaje de Inhibición de la Amplitud de las Contracciones Basales del Extracto Hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L (ajenjo) en Íleon Aislado de Cobayo.....	102
N°4.17	De las medias, desviación típica, mínimos y máximos del porcentaje de inhibición del extrato hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	102
N°4.18	Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del extrato hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	103
N°4.19	Prueba de Duncan del porcentaje de inhibición del extrato hidroalcohólico 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	103
N°4.20	Porcentaje de inhibición de la amplitud de las contracciones basales delaceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L (ajenjo) en íleon aislado de cobayo.....	106
N°4.21	Cuadro de las medias, desviación típica, mínimos y máximos del porcentaje de inhibición del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	106
N°4.22	Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	107
N°4.23	Prueba de duncan del porcentaje de inhibición del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.	107
N°4.24	Datos de las amplitudes máximas despues de la inducción con acetilcolina	110
N°4.25	Cuadro de las medias, desviación típica, máximos y mínimos de las aplitudes máximas del extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.	110
N°4.26	Análisis de varianza del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. frente a la acetilcolina	110
N°4.27	Prueba de duncan del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. frel	111
N°4.28	Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. frente a la acetilcolina	111
N°4.29	Datos de las amplitudes máximas despues de la inducción con acetilcolina	114
N°4.30	Cuadro de las medias, desviación típica, máximos y mínimos de las aplitudes máximas del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.	114
N°4.31	Análisis de varianza del efecto antiespasmódico del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. frente a la acetilcolina	115
N°4.32	Prueba de duncan del efecto antiespasmódico del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. frente a la acetilcolina	115

N°4.33	Porcentaje de inhibición del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. frente a la acetilcolina	113
--------	--	-----

INDICE ANEXOS

N°1	Identificación botánica de la planta.....	131
N°2	Certificado de los animales de experimentación (ratones albinos).....	132
N°3	Certificado de los animales de experimentación (cobayos albinos).....	133
N°4	Constancia de uso de laboratorio.....	134
N°5	Constancia de coasesoria.....	135
N°6	Constancia de informe de análisis cromatografico del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	136
N°7	Cromatograma y espectro del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	137
N°8	Comparación de los componentes del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L de diferentes orígenes.....	149
N°9	Ficha de recolección de datos de la actividad antiespasmódica de <i>Artemisia absinthium</i> L. "ajenjo" Método: disminución del transitointestinal en ratones albinos.....	151
N°10	Ficha de pruebas de solubilidad del extracto hidroalcohólico /aceiteesencial de <i>Artemisia abinthium</i> L.....	152
N°11	Pruebas de análisis fitoquímico.....	153
N°12	Ficha de recolección de datos del análisis fitoquímico del extracto hidrolacohólico.....	155
N°13	Cuadro comparativo del porcentaje de rendimiento del aceite esencial de diferentes países de Europa.....	156
N°14	Extracción del aceite esencial.....	157
N°15	Índice de saponificación.....	158
N°16	Análisis de GC-MS.....	159
N°17	Determinación del efecto antiespasmódico por medición del tránsito intestinal.....	160
N°18	Componentes del equipo de órganos aislados.....	161
N°19	Calibración del equipo.....	163
N°20	Vista de la configuración del DataPad.....	165
N°21	Preparación de la solución de ringer y acetilcolina.....	167
N°22	Determinación del efecto antiespasmódico en íleon aislado de cobayo.....	168
N°23	Determinación de las contracciones basales del íleon aislado de cobayo.....	169
N°24	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo del fármaco patrón (atropina).....	170
N°25	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo de concentración 900µg/ml del extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	171
N°26	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo de concentración 1200µg/ml del extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	172
N°27	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo de concentración 1500µg/ml del extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	173

N°28	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo de concentración 0.05mg/mL del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	174
N°29	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo de concentración 0.1mg/mL del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	175
N°30	Datos obtenidos de la experimentación ex vivo de concentración 0.2mg/mL del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L.....	176
N°31	Pruebas piloto.....	177

INTRODUCCIÓN

La información acerca del descubrimiento y atribución de propiedades biológicas y farmacológicas a las diversas plantas por nuestros habitantes, es recolectada a través de entrevistas y/o encuestas, siendo muchas de ellas confrontadas con estudios farmacológicos a través de técnicas las cuales utilizan órganos aislados, animales de experimentación, experimentos *in vitro* o con métodos alternativos (farmacología pre-clínica). En algunos casos a tenido un sustento real, la observación fue certera y el efecto existió. En otros casos solo se ha tratado de asociaciones sin fundamento. (1)

Los cólicos intestinales en urgencias; en los últimos debates y congresos de urgencias se ha llegado a la conclusión que el dolor abdominal es la causa más frecuente de consulta médica y de enfermería urgente, constituyendo al menos el 50% de los motivos de urgencia hospitalaria (2)

Teniendo conocimiento de los antecedentes de las propiedades medicinales de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" en el tratamiento de diversas enfermedades entre ellas se encuentra el efecto antiespasmódico, ya que dicha planta es usada popularmente para el tratamiento de los cólicos intestinales, es que se decide desarrollar esta investigación, evaluando la actividad antiespasmódica del extracto Hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" en íleon aislado de cobayo y en ratones albinos.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El dolor abdominal, puede ser de tipo cólico, acompañándose de náuseas, vómitos, palidez y sudoración, es una de las causas más frecuentes de visitas en busca de atención médica primaria. Las consultas a urgencias por dolor abdominal representan el 5 a 10% de pacientes en nuestro país, sin embargo la etiología no fue identificable en un porcentaje mayoritario de los pacientes con dolor abdominal. Tratándose en muchos casos de un cólico producido por el incremento de la motilidad digestiva postprandial. Siendo el tratamiento sintomático más utilizado los modificadores de la motilidad digestiva (3)

Con el avance de la ciencia y la tecnología, el mundo se enfrenta a enormes desafíos que no excluyen a los países de América Latina. Ante el reto de superar nuestras grandes dificultades, una fuente de esperanza y la más importante es nuestra biodiversidad, la cual se consolida como un factor importante que contribuirá al desarrollo de nuestros pueblos. (1)

Artemisia absinthium L. (Ajenjo), planta nativa del viejo mundo, en el Perú está distribuida en la costa, sierra y Amazonía se emplea tradicionalmente para tratar afecciones gástricas (cólico, diarrea, disentería, gases, gastritis, indigestión, parásitos); el aceite esencial del ajenjo posee acción carminativa, espasmolítico, antibacteriana y antifúngica, no existen datos de interés que se basen en experimentos recientes. Está indicada principalmente en casos de inapetencia, anorexia, dispepsias hiposecretoras, discinecias hepatobiliares, espasmos gastrointestinales y flatulencia. (4)(5)

Es importante recordar la necesaria complementación de la experimentación in vivo y ex vivo en el estudio de una especie medicinal, porque no siempre se encuentra la correlación en los resultados de ambos tipos de investigación. (6).

La disminución del tránsito intestinal en ratones es un modelo farmacológico preclínico que permite sustentar la hipótesis del uso tradicional de las plantas medicinales. La acción observada tras la administración de fármacos

en el animal entero, así como su potencia relativa en comparación con otros agonistas o antagonistas, se comenzó a utilizar la técnica del órgano aislado como pieza ineludible en el estudio del mecanismo de acción de los fármacos. (7)(8)

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

- ❖ ¿Presentarán efecto antiespasmódico el aceite esencial y el extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" in vivo y ex vivo?

1.3 OBJETIVOS:

1.3.1 Objetivo General:

- ❖ Evaluar el efecto antiespasmódico del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" in vivo y ex vivo.

1.3.2 Objetivos Específicos:

1. Realizar el análisis fitoquímico cualitativo y las pruebas de solubilidad del extracto hidroalcohólico al 70% *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo".
2. Realizar las pruebas de solubilidad, los ensayos Físico – Químicos y la caracterización del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo".
3. Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" por medición del tránsito intestinal en ratones albinos.
4. Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" sobre las contracciones basales de íleon aislado de cobayo.
5. Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" frente a la inducción con acetilcolina de íleon aislado de cobayo.

1.4 JUSTIFICACIÓN:

En el Perú Antonio Brack reporta que *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" como planta utilizada en medicina tradicional por sus numerosas propiedades farmacológicas, siendo uno de sus usos mas populares en afecciones gastrointestinales a manera de infusión o el uso del aceite esencial en forma diluida (4). El trabajo realizado por Estomba D. et al (2005) sobre plantas medicinales utilizadas por una comunidad de mapuche en las cercanías de Junín de los andes de Neuquén Chile, donde llegaron a la conclusión de que *Artemisia absinthium* L. es utilizada por sus propiedades digestivas (9). Para validar el uso tradicional que le dan a *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" es que se desarrolla la presente investigación dándole las bases científicas que otorgaran la solidez sobre los conocimientos etnobotánicos del ajenjo. También tomando en consideración el bajo costo que tendría la utilización de ajenjo en el tratamiento de cólicos intestinales, y la fácil accesibilidad que tendría al ser difundida sus propiedades antiespasmódicas.

1.5 HIPÓTESIS:

- ❖ EL aceite esencial y el extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" presentan efecto antiespasmódico in vivo y ex vivo.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES:

2.1.1 ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS DE *Artemisia absinthium* L.

Estomba Diego, Ladio Ana, Lozada Mariana (2005) "PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS POR UNA COMUNIDAD DE MAPUCHE EN LAS CERCANÍAS DE JUNÍN DE LOS ANDES DE NEUQUÉN" Chile.

Compararon el uso de las plantas medicinales en la comunidad Mapuche Paineofilú utilizando dos metodologías etnobotánicas: Entrevistas individuales y un taller participativo. Se trabajó con el 67% de la población, registrándose un total de 42 especies. Las más citadas fueron: ajenjo (*Artemisia absinthium*), nalca (*Gunnera tinctoria*), ñanculahuén (*Valeriana carnososa*) y carqueja (*Baccharis trimera*). Las plantas citadas con ambas metodologías se asemejaron en un 41%. Los efectos más reportados en las entrevistas fueron: digestivos (39%), analgésicos (20%). Llegando a la conclusión de que *Artemisia absinthium* L. es utilizada por sus propiedades digestivas. (9)

Bernat V., Salvador C., (2003) "FITOTERAPIA VADEMÉCUM DE PRESCRIPCIÓN" MASSON Editorial, Cuarta edición, Barcelona España.

Artemisia absinthium L. (Ajenjo): Se emplea la droga pulverizada, troceada en infusión o decocción, y en forma de extractos y tinturas incluidos en preparados de administración exclusivamente oral, líquidos o sólidos. Los preparados de la droga administrados por vía oral producen un incremento de las secreciones gástricas y de la bilis, debido principalmente a los principios amargos. Tiene acción estimulante del apetito y favorecedora de la digestión. El aceite esencial de ajenjo posee acción carminativa, espasmolítico, antibacteriana y antifúngica. Se emplea como amargo aromático en caso de: inapetencia, anorexia, dispepsias hiposecretoras, discinencias hepatobiliares, espasmos gastrointestinales y flatulencia. En medicina popular se ha utilizado también en el tratamiento de la oxiuriasis, por vía interna, y en dermatomicosis, otitis, heridas, quemaduras y ulceraciones dérmicas, por vía tópica. (10)

Por sobredosis o uso prolongado pueden aparecer síntomas de toxicidad debido a la tuyaona. Sin embargo, este compuesto apenas se encuentra en

los extractos acuosos de la droga, tales como la infusión. Se pueden preparar también extractos libres de tuyoona empleando etanol al 30% (v/v) o CO₂ supercrítico. El aceite esencial puro no debe ser administrado por vía interna, debido a su elevada toxicidad. La intoxicación se manifiesta con: espasmos gastrointestinales, vómitos, retención de orina, vértigo, temblores y convulsiones.(10)

Brack A. (1999). DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO DE PLANTAS ÚTILES DEL PERÚ. EDITORIAL, Centro De Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas. Cusco – Perú.

Indica que la infusión de las hojas *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) es usado como digestivo estomacal, en afecciones hepáticas con falta de apetito, molestias de la menstruación, afecciones de los ojos, abortivo, condimento, insecticida. El aceite esencial debe usarse con precaución internamente porque en altas dosis produce intoxicación del sistema nervioso conocido como absintismo, y cuyos síntomas son temblores, mareos, dolores de cabeza y pérdida de conocimiento. (4)

2.1.2 ANTECEDENTES DE ESTUDIOS FITOQUÍMICOS.

Llorens M. Juan A., Castell Z. Vicente, Pascual R. Rafael (2008) “COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. PROCEDENTE DEL TÉRMINO MUNICIPAL DE CALAMOCHA (TERUEL). CARACTERIZACIÓN DE SU QUIMIOTIPO Y ESTUDIO DE LAS VARIACIONES ESTACIONALES”. Universidad Politécnica de Valencia Revista Xiloca.

El ajenjo común o wormwood (*Artemisia absinthium* L.) es una especie común en la Península Ibérica. Crece frecuente en terrenos baldíos y ruderales, fincas abandonadas, etc. Su uso más conocido está relacionado con el licor denominado absenta o con los principios amargos que justifican su peculiar contribución al sabor de bebidas como los vermouth. Además, sus bien documentados efectos alelopáticos, insecticidas, acaricidas, – particularmente del aceite esencial obtenido de sus partes aéreas – son prometedores en cuanto a su empleo en la preparación de productos fitosanitarios alternativos. No obstante, la existencia de diversos quimiotipos,

definidos por la presencia de ciertos componentes mayoritarios, hace imprescindible su caracterización ya que puede afectar a compuestos con actividad biológica, tal como sucede con la tuyoona, de propiedades neurotóxicas. El objetivo de este trabajo ha sido la identificación del quimiotipo de ajeno que se desarrolla espontáneamente en el término municipal de Calamocha, que ha resultado ser el que contiene como componentes mayoritarios cis-epoxiocimeno y acetato de cis-crisantenilo. Se ha estudiado también la variación en la composición de su aceite esencial a lo largo del ciclo anual, así como entre el obtenido a partir de flores y de hojas, respectivamente. (11)

Basta A., Tzakou O., Couladis M., Pavlovic M. (2007) "COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA *Artemisia absinthium* L. DE GRECIA" Journal of essential oil research, Grecia.

Determinaron que el aceite obtenido de la planta, con una producción de 0.31% (V/W), era de color verde y olor fuerte. Los componentes volátiles identificados en el aceite son 68 compuestos, que representan el 93.4% del aceite. Los componentes más dominantes eran el óxido de cariofileno (25.3%), el p-cineno (16.8%) y el acetato de lanceol (7.3%). Los sesquiterpenos oxigenados constituyen la fracción principal del aceite (40.6%), mientras que los hidrocarburos del sesquiterpeno considerado a 7.2% del aceite con el chamazuleno (2.9%) y el β -selineno (1.8%) como los componentes principales. Los monoterpenos y los hidrocarburos oxigenados del monoterpeno ascendieron a 20.8% y a 20.2% del aceite, respectivamente. El sclareol del diterpeno fue detectado como componente del rastro en el aceite. (12)

Anne Orava, Ain Raalb, Elmar Arakb, Mati Müüriseppa, and Tiiu Kailasa (2005) "COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. DE DIFERENTES ORIGENES GEOGRAFICOS" Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.

Las variaciones en la composición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. obtenida de diferentes áreas geográficas de Europa fueron determinadas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Los aceites fueron obtenidos a partir de la planta seca con un rendimiento de

0.1–1.1%. *Artemisia absinthium* L. recolectado en Estonia correspondió a los estándares de la Farmacopea Europea en el aspecto del contenido de aceite esencial. Un total de 107 componentes fueron identificados, que representa más del 85 % del rendimiento total de aceite. Los componentes principales en los aceites fueron 3-methylbutanoate (0.4–7.3%) sabineno (0.9–30.1%), mirceno (0.1–38.9%), 1,8-cineol (0.1–18.0%), cetona artemisia (0–14.9%), linalol y de α -tuyona (1.1–10.9%), β -tuyona (0.1–64.6%), trans-epoxyocimeno (0.1–59.7%), trans-verbenol (0–11.7%), carvone (0–18.5%), (E)- acetato de sabinyl (0–70.5), curcumeno (0–7.0%), nerylbutirato (0.1–13.9%), neryl 2-metilbutanoato (0.1–9.2%), neryl 3- methylbutanoate , y chamazuleno (0–6.6%). Los monoterpenos fueron predominantes (44.0–67.9%) en los aceites de Escocia, Estonia (2000, 2002), Moldova, y Hungría. En los otros aceites estudiados los monoterpenos oxigenados predominan (41.2–93.9%). El contenido más alto de sesquiterpenos oxigenados (11.9–29.8%) se encontraron en los aceites de Italia, Letonia, Lituania, y Alemania. El aceite de Armenio contiene mas chamazuleno (6.6 %) que los otros aceites (0–2.1%). Se encontró que cuatro quimiotipos para caracterizar a *A. absinthium* L. que crecen en Europa. El aceite rico en sabineno y mirceno, α y β tuyona, epoxyocimeno, y (E)-acetato de sabinyl. Algunos quimiotipos mixtos también fueron encontrados. (13)

2.1.3 ANTECEDENTES DE ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS.

2.1.3.1 ANTECEDENTES LOCALES

Ibarra C. Brayana, Tunqui N. Gina (2009) “ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. FRENTE A *Trichophyton rubrum* y *Candida albicans*, DERMATOTOXICIDAD Y ELABORACIÓN DE UNA FORMA FARMACÉUTICA” Universidad San Antonio Abad del Cusco.

El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. “Ajenjo”, se ha obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua de las partes aéreas de la planta. Esto fue sometido a un análisis fitoquímico determinándose los siguientes compuestos: taninos, lactonas, triterpenoides y esteroides. Mediante el método de agar en placa excavada, se determinó la actividad

antimicótica, frente a las cepas de: *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, encontrándose halos de inhibición de 18.36 mm y 19.24mm para *Trichophyton rubrum* y *Candida albicans* respectivamente. El aceite esencial es un irritante, sensibilizante, agente fototóxico débil para la piel y aparentemente no fotoalergénico para la piel. Se elaboró una crema al 2% de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo", observándose que la crema al 2% es un irritante, sensibilizante, fototóxico débil para la piel y aparentemente no fotoalergénico para la piel. Llegando a la conclusión que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" presentó efecto antimicótico sobre las dos especies, en comparación con el fármaco patrón, el aceite esencial tiene un mayor efecto antimicótico. Se concluyó que la muestra es una sustancia débilmente dermatotóxica, al igual que la forma farmacéutica elaborada. (14)

2.1.3.2 ANTECEDENTES NACIONALES

Chavez S. Jennifer D., Sucari M. Flor M. (2009) "ESTUDIO DEL EFECTO ESPASMOLÍTICO IN VITRO DE LOS EXTRACTOS DE *Minthostachys mollis* (MUÑA) Y *Senecio nutans* (CHACHACOMA) EN ÍLEON AISLADO DE *Rattus norvegicus*" Universidad Católica de Santa María, Arequipa.

Obtuvieron los extractos de ambas plantas por el método de extracción de Soxhlet usando tres solventes: hexano, acetato de etilo y metanol de *Minthostachys mollis* (Muña) Y *Senecio nutans* (Chachacoma), se prepararon los extractos a diferentes concentraciones, con ellos se determinó cual de los tres extractos presentaba efecto espasmolítico sobre la amplitud de la contracción espontánea del músculo liso intestinal de íleon aislado de *Rattus norvegicus*, en donde los extractos metanólicos de *Minthostachys mollis* (Muña) Y *Senecio nutans* (Chachacoma) presentaron mayor actividad espasmolítica significativa que los extractos hexánicos y de acetato de etilo de *Minthostachys mollis* (Muña) Y *Senecio nutans* (Chachacoma) presentando menor actividad espasmolítica significativa sobre la amplitud de la concentración espontánea del músculo liso intestinal de íleon. Realizados los análisis estadísticos se llegó a la conclusión que el extracto metanólico de *Minthostachys mollis* (Muña) presenta actividad espasmolítica significativa sobre la contracción espontánea basal del

músculo liso intestinal y sobre la amplitud de la contracción del músculo liso intestinal de íleon inducida por acetilcolina. En el caso del extracto metanólico de *Senecio nutans* (Chachacoma) se demostró que tiene actividad espasmolítica significativa sobre la amplitud de la contracción del músculo liso intestinal de íleon tanto en su forma basal como en la inducida por la acetilcolina. (15)

Ochoa Christiam L., Chapoñan Martin O., Granda Cecilia A., Quintana Willy, Chauillco Xavier W., Puerta Everth B., Gutierrez Graham (2008) “EFECTO ANTIDIARRÉICO Y ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Punica granatum* L. (GRANADA) EN RATONES” Universidad Nacional Mayor De San Marcos.

Se encontró que en el tratamiento con extracto metanólico de granada disminuyó significativamente la cantidad total de deposiciones frente al control negativo después de 2 horas de inducción. Por otra parte, el tiempo de aparición de la primera defecación semilíquida del grupo granada fue 80 minutos mas tarde que la del grupo control negativo. También se encontró que en el tratamiento con el extracto de granada el tránsito intestinal disminuyó significativamente ($61.55\% \pm 21.26$) respecto del control negativo ($95.97\% \pm 2.53$) pero no frente al grupo con Loperamida ($18.69\% \pm 7.23$) para un $p < 0.05$. Los resultados hallados demuestran el efecto antiespasmódico y el efecto antidiarréico del extracto metanólico reconstituido en agua de *Punica granatum* L. en ratones probablemente debido al alto contenido de taninos, antocianinas y polifenoles con propiedades antisecretorias, antiespasmódicas y antiinflamatorias en la mucosa gastrointestinal. (16)

Flores L. Karla. Herrera M Rubí. (2003): EFECTO DEL EXTRACTO: AJENJO, PAICO Y AJENJO MÁS PAICO EN TRATAMIENTO DE PARASITOSIS INTESTINAL EN NIÑOS: 6 – 9 AÑOS. COLEGIO 020 “HILARIO CARRASCO VINCES” Corrales - Tumbes.

El efecto del extracto: ajenjo, paico y ajenjo más paico, con una dosis según edad (entre 15 a 20 cc, durante 7 días y en ayunas), fue: curativo inmediato con un 63,6; 72,7 y 81,8 %, curativo inmediato mas no curativo con un 9,1 y 18,2 % y no curativo con un 27,3; 9,1 para el extracto: ajenjo, paico y ajenjo

más paico. Según los resultados encontrados en la presente investigación se sugiere que sirvan de base en la medicina preventiva – promocional de nuestra población; puesto que, ha sido demostrada su efectividad con las plantas antes mencionadas, además, se pueden beneficiar por su facilidad de obtención, bajo precio y disponibilidad hacia la población. (17)

2.1.3.3 ANTECEDENTES INTERNACIONALES DE LA PLANTA

Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M. A., Ansaroudi, F., Nabavi, S. F. and Nabavi, S. M. (2009) “ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA Y ANTIOXIDANTE DE *Artemisia absinthium* L. EN ETAPA DE FLORECIMIENTO” *African Journal of Biotechnology*.

Artemisia absinthium (Asteraceae) es ampliamente usado en la medicina tradicional iraní. Sus efectos pueden estar correlacionados con la presencia de compuestos antioxidantes. Fue examinada su actividad antioxidante del extracto metanólico de las partes aéreas de *A. absinthium* en etapa de florecimiento por cinco sistemas experimentales complementarios. También, su actividad antidepresiva fue determinada por las pruebas de natación forzada (FST) y suspensión de la cola (TST). El extracto mostró buena actividad antioxidante. También, el extracto mostró buena actividad en el poder de reducción entre 50 y 800 µg/ml. El extracto exhibió una buena actividad en la captación del radical H₂O₂ (IC₅₀= 243 ± 12.15 µg/ml). La IC₅₀ para la actividad de quelación del ion de Hierro fue 419 ± 20.95 µg/ml. La Quercetina, BHA (butylated hidroxyanisole), EDTA y ácido ascórbico fueron usados como controles positivos en experimentos paralelos. El extracto mostró alto contenido de flavonoides y compuestos fenólicos. El extracto mostró buena actividad antidepresiva en FST acortado notablemente el período de inmovilidad durante el FST y TST; el extracto exhibido una actividad dependiente de la dosis. Todos los grupos de prueba son significativamente diferentes (P < 0.001). El extracto a la dosis de 500mg/kg mostró actividad similar a la imipramina 10 mg/kg (p > 0.05) en TST. El LD₅₀ fue 3700 mg/kg. Estos resultados nos dicen que las partes aéreas de *A. absinthium* son una fuente fácilmente accesible y comestible de antidepresivos y antioxidantes naturales. (18)

**COMMITTEE ON HERBAL MEDICINAL PRODUCTS (HMPC) (2009)
“REPORTE CIENTÍFICO SOBRE *Artemisia absinthium* L., HIERBA”
Agencia de Medicina Europea, Evaluación de Medicinas para Consumo Humano.**

Artemisia absinthium L. es muy conocida y el uso de los productos tradicionales medicinales de la planta tiene siglos en países europeos. Existe suficiente información para desarrollar una monografía Comunal del uso tradicional de *Artemisia absinthium* L. Dando indicaciones para la automedicación. Las indicaciones propuestas son: la pérdida del apetito temporal, y para los desórdenes dispépticos suaves/desorden gastrointestinal. Los estudios farmacológicos in vitro e in vivo mostraron efectos estimulantes en la secreción gástrica, intestinal y biliar.

El consumo de tuyona no debe exceder 3.0mg /día y la duración del uso debe ser limitada a 2 semanas. Los quimiotipos de *A. absinthium* con bajo contenido de tuyona debe ser preferido. El uso de *Artemisia absinthium* L. debe ser evitado durante el embarazo y la lactación; esta contraindicado en niños y adolescente menores de 18 años y en pacientes con obstrucción biliar, colangitis o enfermedad del hígado. La toma de preparaciones de *Artemisia absinthium* L podría aumentar el efecto de productos medicinales que actúan en el receptor GABA. (19)

Rodríguez P. M.; Martínez, J.M.; Rivero, L.R.; Álvarez, H.M.H.; Valdez, A.F.C.; Rodríguez, D.A.; Lizama, R.S.; Payrol, J.A. (2006) “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA DE ALGUNAS PLANTAS UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL CUBANA.” Universidad de la Habana, La Habana, Cuba. Revista de Ciencias Farmacéuticas Básica y Aplicada.

La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas es una alta prioridad en la lucha por el control de la malaria. El objetivo fue evaluar los extractos preparados a partir de plantas seleccionadas en base a información etnobotánica obtenida de la Medicina Tradicional Cubana. Extractos de seis plantas (*Bambusa vulgaris*, *Parthenium hysterophorus*, *Melaleuca leucadendron*, *Indigofera suffruticosa*, *Artemisia absinthium*, *Simarouba glauca*), fueron evaluados *in vitro* frente a la cepa F32/Tanzania de

Plasmodium falciparum. *S. glauca*, *P. hysterothorus*, *M. leucadendron* y *A. absinthium* mostraron valores de Concentración Mínima Inhibitoria en el rango de 3,1 a 50 µg/mL, mientras *B. vulgaris* e *I. suffruticosa* presentaron valores negativos contra esta cepa. Al evaluar estas cuatro especies *in vivo* frente a *Plasmodium berghei* NK65, mostraron mayor actividad inhibidora *A. absinthium* con un 65,9% de reducción de la parasitemia a la dosis de 500 mg/kg, *M. leucadendron* con un 50% de reducción a la dosis de 250 mg/kg y *S. glauca* con una reducción del 43,2% a la dosis de 100 mg/kg. Los extractos que mostraron menor toxicidad fueron *A. absinthium*, y *M. leucadendron*. Estos resultados muestran las potencialidades antimaláricas de algunas plantas medicinales utilizadas en Cuba y trazan el camino para estudios posteriores de sus constituyentes químicos activos. (20)

Saban Kordali, Irían Asían, Onder Çalmasura, Ahmet Cakir (2006)
“TOXICIDAD DEL ACEITE ESENCIAL AISLADO DE TRES ESPECIES DE *Artemisia* Y DE ALGUNOS DE SUS PRINCIPALES COMPONENTES FRENTE A GORGOJO DEL GRANERO, *Sitophilus granarius* (L.) (COLEÓPTERA: CURCULIONIDAE)”. *Industrial Crops and Products*.

Los aceites esenciales de las partes aéreas de tres especies *Artemisia* (*A. absinthium*, *A. santonicum* y *A. spicigera*) obtenidos por el método de hidrodestilación, se probó su toxicidad contra el gorgojo del granero, (*Sitophilus Granarius*.) (Coleóptera: Curculionidae). Todos los aceites esenciales probados son tóxicos para los adultos de *S. granarius*. Los aceites mostraron 80 – 90% de mortalidad del gorgojo del granero. *S. granarius* en una dosis de 9 µl/L después de 48h de exposición. Algunos compuestos purificados (alcanfor, 1, 8-cineol, terpinen-4-ol, borneol, acetato bornyl y α-terpineol) identificados como componente mayoritarios en los aceites, en dosis de 0.5 - 0.75 y 1µl/L de aire fue probado contra *S. granarius*. Entre los compuestos puros probados el 1,8- cineol y terpinen-4-ol fueron más tóxicos para *S. granarius*, mostrando un 100 % mortalidad en todas las dosis después de 12h de exposición. Puede concluirse que los aceites esenciales de tres especies *Artemisia* y sus componentes mayoritarios, 1, 8-cineol y terpinen-4-ol son agentes potenciales para el control de *S. granarius*. (21)

Guerra O. Marta, Torres I. Dinorah, Martínez P. Leticia. (2001)
“VALIDACIÓN DEL USO TRADICIONAL DE PLANTAS MEDICINALES CULTIVADAS EN CUBA” Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) REV CUBANA PLANT MED.

Se evaluó la actividad antimicrobiana y anti-giardíase in vitro de extractos fluidos de *Artemisia absinthium* L., *Stachytarpheta jamaicensis* L. y *Teloxis ambrosioides* L., empleando los ensayos de diluciones en medio líquido y producción de formazán, respectivamente. Fue calculada la concentración mínima inhibitoria y mínima microbicida de microorganismos de interés clínico humano y el por ciento de inhibición del crecimiento de *G. Lamblia*. Los extractos mostraron actividad antimicrobiana y anti-giardíase, lo que guarda relación con su uso tradicional. No obstante, otros aspectos deben ser analizados con detenimiento para proponer el uso de estos extractos en el desarrollo de fitofármacos. (22)

Anwar-UL Hassan Gilani and Khalid Hussain Janbaz (1995)
“PREVENCIÓN Y EFECTOS CURATIVOS DE *Artemisia absinthium* SOBRE LA HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR ACETAMINOFEN Y CCL₄” Gen Pharmacy.

El efecto de extracto de acuoso - metanólico de *Artemisia absinthium*, (Compositae) fue investigado en la inducción de daño hepático por acetaminofen y CCl₄. El acetaminofen produjo 100 % de mortalidad a la dosis de 1g/ Kg en ratones, mientras el pretratamiento de los animales con extracto de la planta (500 mg/Kg) redujo la tasa de mortalidad al 20 %. El pretratamiento de ratas con extracto de la planta (500mg/Kg, oralmente dos veces por día por 2 días) previno el aumento de transaminasas (GOT y GPT) en suero (P < 0.01) para el acetaminofén (640 mg/Kg) así como también CCl₄ (1.5 mL/Kg). El postratamiento con tres dosis sucesivas de extracto (500 mg/Kg, 6 cada hora) pudo prevenir el daño hepático inducido por acetaminofén (p < 0.01) pero fue incapaz de modificar la hepatotoxicidad provocada por CCl₄ (P > 0.05). El extracto de la planta (500 mg/Kg) causó prolongación significativa en la inducción de sueño por pentobarbital (75 mg/Kg) (P < 0.05) como también el aumentado de la letalidad inducido por estricnina en ratones por su atribuido efecto inhibitorio de MDME. Además,

el extracto de la planta tiene actividad en el bloqueo de los canales Ca^{2+} en los experimentos de tejidos aislados. Por lo tanto el efecto hepatoprotector de *Artemisia absinthium* puede ser atribuido a la inhibición de MDME y bloqueo de los canales de Ca^{2+} . (23)

DEL EFECTO

Goze Ismihan, Alim Ahmet, Akkus C. Senay, Durmus Nedim, Vural Nilufer, Murat G. Hamdi (2009) "COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIONA Y ANTIESPASMÓDICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Thymus Fallax* Fisch. MeY"

En íleon de rata se probó el efecto del aceite esencial de *T. fallax* sobre las contracciones espontáneas. *T. fallax* inhibió tanto la amplitud y la frecuencia de las contracciones espontáneas en 100 % con una dosis de 0.1 mg/mL. El efecto de aceite esencial fue potente y dependiente de la concentración, y completamente reversible cuando se lavaba el órgano. Estos efectos no parecen estar relacionados con las propiedades no específicas de los aceites de modificar la estructura de la membrana celular, sino haciendo cambios precisos en un punto. Así una variedad de aceites esenciales de plantas ejercen efectos potentes en músculo intestinal aislado por diferentes mecanismos. Mas estudios son necesarios para elucidar el mecanismo de acción de *T. fallax* y evaluar su posible participación como principio activo usados en los remedios caseros. Ésta es la primera investigación del estudio de las propiedades antimicrobiana, antioxidante y antiespasmódica del aceite esencial De *T. fallax* en nuestro laboratorio. Observándose una fuerte actividad antioxidante, antimicrobiana y antiespasmódico del aceite esencial de *T. fallax*. Esta planta puede ser considerada como una fuente natural para muchos estudios posteriores a este. (24)

Romero Marco A., Dávalos Hortencia N., Astudillo V. Adela (2009). "ACTIVIDAD GASTROINTESTINAL DEL FRUTO DE *Cydonia oblonga* MILLER" Departamento de Biofísica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Mexico

Las estadísticas de salud indican que en México y otros países, las diarreas continúan afectando a la población. El fruto de *Cydonia oblonga* Miller

(Rosaceae) (membrillo) se usa popularmente en el tratamiento de la diarrea. El objetivo fue determinar el efecto del fruto de *C. oblonga* en dos modelos gastrointestinales, *in vivo*. El efecto sobre la propulsión intestinal, en ratones, se probó utilizando el método de carbón activado; se encontró que el preparado acuoso y el extracto etanólico del fruto de *C. oblonga* disminuyeron el avance del contenido gastrointestinal; además, redujeron la diarrea inducida por aceite de ricino en ratones. Los resultados contribuyen a explicar el uso popular del fruto de *C. oblonga* como agente antidiarreico. (25)

Perez G. Rosa M. y Vargas S. Rosario (2008) “EFECTO RELAJANTE Y ANTIESPASMÓDICO DE LOS EXTRACTOS DE LA ORQUIDEA *Encyclia michuacana* EN ÍLEON AISLADO DE COBAYO” The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer.

El efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico, hexánico, metanólico y acuoso de *Encyclia michuacana* (orquídea), fueron estudiados *in vitro* en íleon de cobayo frente a tres espasmógenos: acetilcolina (Ach), histamina y cloruro de bario. El extracto clorofórmico ejerció un efecto antiespasmódico significativo frente a contracciones inducidas por Ach, histamina y cloruro de bario (IC₅₀ = 90.64, 73.12 y 115.2 µg/mL, respectivamente). Además, el extracto clorofórmico de *E. michuacana* provocó una inhibición en las contracciones espontáneas de íleon de cobayo dependiente a la concentración, comparables a la papaverina. El antagonismo contra los espasmógenos usados se sugiere principalmente a la presencia de gigantol en el extracto clorofórmico. Los extractos metanólico, hexánico y acuoso no presentaron efecto antiespasmódico significativo. (26)

Alba R. Carolina, Camacho Robinson, Polanco Mauricio, Gómez Sebastián (2008) “EFECTO RELAJANTE DE LAS HOJAS DE *Ocimum basilicum* Y *Foeniculum vulgare* COLOMBIANAS EN ÍLEON AISLADO DE RATA” Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá – Colombia.

El hinojo y la albahaca han sido usadas por largo tiempo en la medicina popular como antiespasmódicos para mejorar las dolencias gastrointestinales y el cólico intestinal. Se evaluó el efecto *in vitro* de la infusión al 10% de hojas secas de *Ocimum basilicum* (albahaca) y

Foeniculum vulgare (hinojo) cundiboyacenses y la mezcla 1:1 de ambas infusiones, en el tono de íleon precontraído de rata. Se observó una disminución del tono al comparar con el agua destilada en cantidades iguales, la cual fue dependiente de la dosis, con una diferencia estadísticamente significativa, para cada una de las plantas y la mezcla. No se encontró un efecto aditivo con la mezcla de ambas plantas. El estudio demostró el efecto relajante de las infusiones de albahaca e hinojo al 10%, en el tono del íleon precontraído de rata. (27)

Zampirolo Júlio A., Stulzer Hellen K., Piazzon Monika, Schlemper Valfredo, Cechinel-Filho Valdir (2008) “ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA DE *Persea cordata* Vell. Mez. (Laureaceae) EN FRACCIONES DE ÍLEON DE COBAYO INDUCIDA POR 5- HIDROXITRIPTAMINA Y BRADIQUININA.” American Journal of Pharmacology and Toxicology

Previamente a demostrar la acción antiespasmódica contra dos neurotransmisores. Es importante confirmar tal acción contra otros neurotransmisores. Describieron la actividad antiespasmódica de la fracción polar (EtOAc; N-BuOH) y no polar (hexánico; Diclorometánica) de *Persea cordata*, contra la acción de la 5-hidroxitriptamina (5-HT) y bradiquinina. Los resultados indican que la fracción hexánica y diclorometánica tuvieron una acción relajante significativa frente a la acción de ambos neurotransmisores probados. Los efectos parecen estar relacionados a la presencia de esteroides y terpenos, pero estudios adicionales en curso identificarán los principios activos de la planta. (28)

Mehdi Babaei, Mitra E. Abarghoei, Maziar M. Akahavan, Reza Ansari, Abbas A. Vafaei, Abbas A. Taherian, Shahrokh Mousavi, Jabar Toussy (2007) “EFECTO ANTIMOTILICO DEL EXTRACTO DE YARROW (*Achillea millefolium*) EN ÍLEON AISLADO DE COBAYO.” Pakistan journal of biological sciences

El efecto del extracto hidrolcohólico de *Achillena millefolium* sobre la respuesta contráctil de íleon aislado de cobayo fue investigado. Fueron evaluados 5 concentraciones del extracto de *Achillena millefolium* dentro del rango de 0.05 – 5 mg/mL. Segmentos de íleon de la porción final fueron colocados en un baño de órganos con solución de tirode. La variación de las

contracciones del tejido fue registrado por un transductor- amplificador de fuerza desplazamiento conectado a un polígrafo. Cada segmento sirvió como su propio control. *Achillena millefolium* inhibió la respuesta contráctil de manera dosis dependiente. La concentración media efectiva fue calculada (1.5mg/mL). Un análisis de regresión muestra que al incrementar la concentración del extracto el efecto aumenta. El coeficiente de la dosis de extracto fue 0.031mg. Los resultados demuestran que el extracto obtenido a partir de la planta. *Achillena millefolium* inhiben las contracciones del íleon de cobayo evaluadas in vitro. Su efecto es dosis dependiente y reversible. (29)

Toso R.E. Toribio M.S. Mengelle, P. Boeris, M.A. (2006) "PLANTAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA, CON ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA Y ANTIESPASMÓDICA" Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias – Argentina.

Evaluaron la actividad gastroprotectora y antiespasmódica de extractos hidroalcohólicos de *Marrubium vulgare* (MV), *Acmella decumbens* (AD), *Lippia turbinata* (LT), *Tribulus terrestris* (TT) y *Ruta chalepensis* (RC). Para determinar el efecto gastroprotector se indujeron úlceras por estrés y la motilidad gastrointestinal se evaluó midiendo el progreso del contenido intestinal en ratones. Atropina y ranitidina fueron utilizadas como drogas de referencia con actividad gastroprotectora y atropina fue utilizada, también, por su efecto inhibitorio sobre la motilidad gastrointestinal. Todos los extractos y la atropina mostraron actividad gastroprotectora ($p < 0,01$). La ranitidina no previno las úlceras en ningún animal. Los ratones tratados con los extractos MV y AD mostraron mayor efecto inhibitorio de la motilidad que el logrado con atropina. Los extractos LT, TT y RC inhibieron el progreso del contenido gastrointestinal en forma más moderada, pero significativa respecto a los ratones pertenecientes al grupo control ($p < 0,01$). Se concluye que todos los extractos ensayados poseen actividad gastroprotectora e inhibitoria de la motilidad gastrointestinal. El efecto gastroprotector logrado con la atropina, pero no con la administración de ranitidina sugiere un importante papel de la acción espasmolítica en el mecanismo de acción de los extractos. (30)

Caldas M. Pedro J., Lahloub Saad, Leal-Cardosoc José H. (2004)
“EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Croton*
***Nepetaefolius* EN ÍLEON DE COBAYO: UNA ACTIVIDAD MIOGÉNICA”**
Blackwell Publishing Fundamental & Clinical Pharmacology.

Los efectos de aceite esencial de *Croton Nepetaefolius* (EOCN) en íleon aislado de cobayo fueron estudiados previamente, demostramos que EOCN produjo relajación reversible sobre el tono del íleon inducido por una solución nutritiva hiperkalémica. Lo más importante de este estudio fue elucidar si el efecto es causado de manera indirecta, neural o por efectos miogénicos. EOCN (40 µg/mL) relajo el tono basal aproximadamente en un 38 % de la contracción inducida por 60 mM de potasio, y no fue alterado por 0.5 mM hexamethonium, 0.5 µM tetrodotoxin, 1 µM indometacina, y 100 µM, metil L-nitroarginina éster, epinefrina (100µM) y EOCN produjeron una máxima relajación en íleon precontraído con 60 mM KCl de $16,8 \pm 2.3\%$ (n=10) y $95.0 \pm 6.4 \%$ (n = 6) respectivamente. EOCN (200 µg/mL) no disminuye el potencial de transmembrana (E_m) de íleon en soluciones nutritiva de potasio normal (5 mM) y de alto contenido (80 mM). EOCN de modo semejante inhibió las contracciones inducidas por KCl, acetilcolina (ACh) e histamina con IC_{50} 18, 28 y 21 µg/mL respectivamente. EOCN también inhibió las contracciones inducidas por acetilcolina en presencia de nifedipino y en una solución libre de calcio. EOCN en contracciones inducidas por KCl acelera el retiro de Ca^{2+} del medio extracelular. Nuestros resultados sugieren que EOCN induce relajación del íleon de cobayo por una acción directa en músculo por un mecanismo mayormente independiente a alteraciones de E_m e influjo Ca^{2+} , posiblemente en el nivel del aparato contráctil. (31)

Gracia M. Ana J. Martínez T. María del C. Morón R. Francisco (2001)
“ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA DE EXTRACTOS DE *Piper auritum* EN
INTESTINO” Facultad de Medicina Dr. “Salvador Allende” Rev. Cubana
Plant Med.

Para validar la actividad espasmolítica del *P. auritum* H.B.K. en el intestino, prepararon los extractos al 45 y 80 % y evaluaron en el modelo de motilidad espontánea de yeyuno aislado de conejo a las concentraciones de 0,48;

0,7275 y 0,97 mg/mL para el extracto al 45 % y 0,0699; 0,1398 y 0,2097 mg/mL para el de 80 %, frente a diferentes espasmógenos (BaCl 200, acetilcolina 0,06 e histamina 0,05 mg/10⁻³/mL) en íleon de curiel con valores similares. La papaverina se empleó con 0,0033; 0,0066 y 0,013 mg/mL. Un modelo *in vivo* para medir la actividad sobre el tránsito intestinal con la dosis de 500, 1 000 y 1 500 para el extracto al 45 %, de 10, 40 y 80 con papaverina y 0,5, 1 y 1,5 mg/mL para la atropina. Con los resultados se puede plantear que la planta tiene acción espasmolítica en el intestino. (7)

Gracia M. Ana J. Martínez T. María del C. Morón R. Francisco, Pinedo Zumila (2001) "EFECTO ESPASMOLÍTICO DEL ACEITE DE *Piper auritum* EN EL MÚSCULO LISO INTESTINAL" Rev. Cubana Plant Med.

Para validar científicamente la actividad antiespasmódica del *Piper auritum* H.B.K., prepararon el aceite esencial al 1% y evaluaron en el modelo de motilidad espontánea de yeyuno aislado de conejo a las concentraciones de 2, 3 y 5 mg/mL frente a diferentes espasmógenos (cloruro de bario 200, acetilcolina 0,06 e histamina 0.05 mg/10⁻³/mL) en íleon de curiel con valores de 1. 2 y 3 mg/mL, La papaverina se empleó a las concentraciones de 0.0033: 0,0066 y 0.013 mg/mL. Con los resultados obtenidos se puede plantear que la planta tiene actividad espasmolítica sobre el músculo liso intestinal. (32)

Morón R. Francisco Martínez T. María del C, Morón P. Déborah (1999) "DISMINUCION DEL TRANSITO INTESTINAL EN RATONES POR TINTURA DE GUAYABA (*Psidium guajaba* L.) ORAL". Rev. Cubana Plant Med.

Las hojas de guayaba (*Psidium guajaba* L.) son empleadas tradicionalmente en Cuba y en otros países del continente americano para tratar las diarrea aguda simple. No existe una validación preclínica del efecto antidiarreico de la tintura de hojas de guayaba al 20 %, proponiéndose comprobar su actividad farmacológica como parte de los estudios preclínicos. Emplearon el modelo *in vivo* de tránsito intestinal en ratones suizos (OF-1), machos de 18 semanas de edad, sin acceso a alimentos las 6 horas anteriores a comenzar el experimento, y se formaron los grupos aleatoriamente. Administraron la

tintura (200; 400; 800mg/kg), se emplearon como controles positivos: papaverina (10; 40 y 80 mg/Kg. im.) y atropina (0.5; 1.0; 1.5mg/kg im.). Encontrándose que todos los tratamientos disminuyeron significativamente y de manera dosis dependiente el tránsito intestinal. Este resultado valida el efecto antiespasmódico de la tintura de hojas de guayaba al 20%. (33)

Céspedes V. Alfredo J., De la Paz N. José, Sebazco P. Caridad, Martínez T. María del C. (1996) "EFECTOS DE LA TINTURA DE *Melissa officinalis* L. SOBRE ÍLEON AISLADO Y EN MODELO DE DIARREAS" INSTITUTO SUPERIOR DE MEDICINA MILITAR "Dr. Luis Díaz Soto". Laboratorio de Medicina Herbaria - Rev Cubana Med Milit.

Realizaron 2 estudios, uno *in vitro* en el íleon aislado de cobayo y otro *in vivo* en un modelo de diarreas en ratas, con el objetivo de corroborar la acción antiespasmódica de una tintura al 20 % de *Melissa officinalis* L. En el modelo *in vitro* se encontró que las dosis de 0,084, 0,169 y 0,338 mg/mL de solución nutricia provocan una disminución significativa ($p < 0,05$) de la contracción inducida con acetilcolina (10 mg/mL). En el estudio *in vivo* se determinó que las dosis de 16,9, 33,8 y 67, 6 mg/kg de peso disminuían el tiempo de aparición de la primera diarrea y su frecuencia. En ambos modelos el efecto estuvo en dependencia de las dosis. La tintura tuvo un efecto antiespasmódico en los 2 modelos utilizados y una acción antidiarreica sobre el modelo *in vivo*. (34)

2.1.4 ANTECEDENTES TOXICOLÓGICOS.

Fernández C. Aymé, Mendiola M. Judith, Monzote F. Lianet, García P. Marley, Sariago R. Idalia, Acuña R. Deyanira, Scull L. Ramón y Gutiérrez G. Yamilet (2009) "EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE EXTRACTOS DE PLANTAS CUBANAS CON POSIBLE ACCIÓN ANTIPARASITARIA UTILIZANDO LARVAS DE *Artemia salina* L." Instituto De Medicina Tropical "Pedro Kourí" Instituto De Farmacia Y Alimentos - Rev Cubana Med Trop.

El ensayo de letalidad de *Artemia salina* es considerado una herramienta útil para la determinación preliminar de toxicidad de extractos de plantas. Estudiaron las potencialidades antiparasitarias de varias especies de

plantas. Con el objetivo de evaluar la mortalidad causada por extractos etanólicos de plantas medicinales cubanas sobre larvas de *A. salina*.

Las larvas de *A. salina* se expusieron durante 24 h a 4 concentraciones de los 35 extractos etanólicos, pertenecientes a 34 especies de plantas. Se determinó la concentración letal media (CL50), lo cual permitió asignar cada extracto a las categorías de extremadamente tóxico, muy tóxico, moderadamente tóxico y no tóxico. (35)

Observaron del total de extractos evaluados solo 5 (*Artemisia absinthium*, *Luffa cylindrica*, *Melia azedarach*, *Melaleuca leucadendron* y *Simarouba glauca*) resultaron extremadamente tóxicos o muy tóxicos, 13 moderadamente tóxicos, mientras que 17 extractos (48,5 %) se clasificaron como no tóxicos al exhibir valores de CL50 superiores a 1 000 µg/mL. Entonces la mayoría de los extractos evaluados mostraron baja toxicidad en este modelo, lo cual resulta favorable. (35)

2.2 BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS:

2.2.1 ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE

2.2.1.1 Identificación Botánica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asterales

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Artemisia*

Especie: *Artemisia absinthium* L.

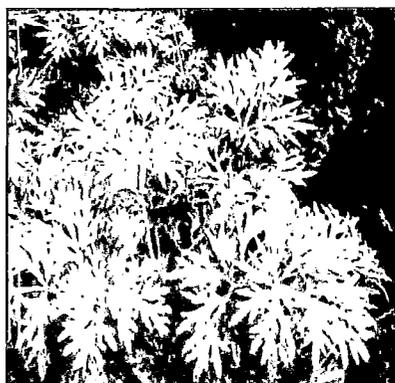


Fig. 2.1: Ajenjo

Fuente: La biblia de las Plantas
Medicinales

<http://www.vivanoperu.com/ajenio.html>

Nombres Comunes:

Ajenjo, asenjo, artemisa amarga, hierba santa, ajenjo mayor, incienso, alosna, absenta, asienjo, ortemisa, ausenta. (36) (37) (38) (39)

2.2.1.2 Descripción Botánica:

Hierba perenne de 1m de alto, cubierta con finos pelitos plateados. Tallo erecto y ramificado. Las hojas, pinnadas, alternas, 5- 7 cm de largo, divididas

en segmentos triangulares, cada una en subdivisiones angostas, lobuladas. Flores 4-6 mm de diámetro, en cabezuelas hemisféricas profusas, distribuidas a lo largo del tallo, amarillentos, pequeños, en panícula terminales. Florece en verano y otoño. Fruto en aquenio unicolar monospermo, liso y muy pequeño. (40).

Localización y Distribución:

Es una planta nativa del viejo mundo, es ampliamente cultivada en ambos hemisferios hasta una altura de 4000msnm. Requiere de clima templado. (39).

Se propaga por semillas o esqueje. Las semillas se siembra en arena fina, germina en 15 días, en filas de 25x25cm y riego diario; trasplantar a filas de 70x40cm. Para propaga por esqueje se busca plantas vigorosas, hacer cortes de 15 cm de largo con 5 yemas, enterrar la mita en filas de 3-4cm, regar diariamente, trasplantar al enraizar. La recolección se hace en plena floración, el primer año al inicio del follaje; los años siguientes dos cortes por año. La vida media de una plantación es de 6-8 años. (40)

En nuestro País Está distribuida en la Costa, Sierra y Amazonía (4).

Composición Química:

Los principios activos son las lactonas sesquiterpénicas, responsables del sabor amargo de la droga, y el aceite esencial.

- ✦ Las lactonas sesquiterpénicas (0.15% - 0.4%) son principalmente de tipo guayonólido. Entre ellas, sobre sale la absintina (guayonólido dimero, 0,20 – 0.28%), acompañada de artabsina, matricina y anabsintina entre otras.
- ✦ El aceite esencial es de composición variable. Según la procedencia de la droga y el quimiotipo, los componentes mayoritarios, que pueden alcanzar un porcentaje superior al 40% de la esencia, son: β - tuyona (1S, 4R-tuyan-3-ona), acetato de trans-sabinilo, cis-epoxiocimeno o acetato de crisantenilo. Otros mono y sesquiterpenos presentes en menor concentración son: α tuyona (1S, 4S-tuyan-3-ona) tuyano, tuyol, linalol, lineol, 1,8-cineol, β -bisabolol, α -curcumeno y espatulenol.

- ✦ Otros constituyentes de la droga son: Flavonoides, ácidos fenoles (cafeico), taninos. (5)

Según la Farmacopea Europea debe contener al menos un 0.2% de aceite esencial calculado respecto a la droga desecada. (41)

2.2.1.3 Usos Populares:

Hojas: Se usa para tratar afecciones nerviosas y hepáticas, flujo vaginal, trastornos menstruales, afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, disentería, gases, gastritis, indigestión y parásitos); estimula la secreción gástrica y biliar. Para desinfectar heridas y granos, tratar inflamaciones, tumores, artritis reumática o gotosa y aliviar torceduras. (39)(40)

Otros usos populares: Antiguamente era utilizado como insecticida doméstico contra la polilla de ropa. Se emplea en la elaboración de desodorantes de ambiente, cosméticos y perfumes (42)

2.2.2 INTESTINO DELGADO Y MOTILIDAD

2.2.2.1 Consideraciones anatómicas

Existen cuatro capas que forman la pared del tubo digestivo, desde la luz hacia fuera: mucosa, submucosa, muscular, y serosa. En la submucosa (muscular de la mucosa) tiene fibras de músculo liso, y en la capa muscular dos capas de músculo liso: una longitudinal externa y una circular interna. (43)

El intestino delgado (ID), se extiende desde el píloro hasta la unión ileocecal con el colon ascendente. Su longitud promedio es de 6 a 7 m y se encuentra subdividido en duodeno, yeyuno e íleon (44)

La primera porción del duodeno en ocasiones se conoce como bulbo duodenal. Es la región a la cual llega el contenido gástrico exprimido a través del píloro y es un sitio frecuente de ulceración péptica. El duodeno se convierte en yeyuno a la altura del ligamento de Treitz. Por convención arbitraria, 40% proximal del intestino delgado distal al duodeno se llama yeyuno y 60% distal se conoce como íleon aunque no existe un límite

anatómico preciso entré ambos. La válvula ileocecal marca el punto final del íleon y el principio del colon. (43)

La mucosa del intestino delgado contiene nódulos linfáticos solitarios y, sobre todo en el íleon, nódulos linfáticos agregados (placas de Peyer) a lo largo del borde antimesentérico. En todo el intestino delgado existen glándulas intestinales tubulares simples (criptas de Lieberkühn). En el duodeno además pequeñas glándulas duodenales acinotubulares espirales (glándulas de Brunner). Como se mencionó antes, el epitelio del intestino delgado contiene varios tipos de células enteroendocrinas y existen muchos pliegues parecidos a válvulas (válvulas conniventes) en la membrana mucosa. (43)

En toda la longitud del intestino delgado, la mucosa está cubierta por vellosidades. Existen de 20 a 40 vellosidades por milímetro cuadrado de mucosa. Cada vellosidad intestinal es una proyección digitiforme de 0.5 a 1 mm de largo cubierta por una sola capa de células cilíndricas y que contiene una red de capilares y un vaso linfático (quilífero). Existen finas extensiones del músculo liso de la submucosa que discurren en sentido longitudinal por cada vellosidad hasta su punta. Los bordes libres de las células del epitelio de las vellosidades se dividen en microvellosidades diminutas. A su vez, a éstas las cubre un glucocáliz, una capa amorfa rica en azúcares neutros y aminoazúcares. Las microvellosidades forman el borde en cepillo. Las células están conectadas entre sí por uniones estrechas. La capa externa de la membrana celular de las células de la mucosa contiene muchas de las enzimas participantes en los procesos digestivos iniciados por las enzimas salivales, gástricas y pancreáticas. Las enzimas de esta membrana incluyen varias disacaridasas, peptidasas y enzimas participantes en la degradación de ácidos nucleicos. (43)

La superficie de absorción del intestino delgado aumenta cerca de 600 veces por las válvulas conniventes, las vellosidades y las microvellosidades. Se estima que la superficie interna de un cilindro de mucosa del tamaño del intestino delgado sería cercana a 3 300 cm², que las válvulas aumentan esa superficie a 10 000 cm², que las vellosidades la incrementan a 100 000 cm²

y que las microvellosidades lo aumentan hasta dos millones de centímetros cuadrados. (43)

La motilidad gastrointestinal tiene funciones esenciales en el tracto digestivo tanto en la enfermedad como en la salud. En sujetos normales comprende la deglución, la digestión mecánica y vaciamiento del estomago, la absorción adecuada de los nutrientes y del agua en el intestino delgado y la defecación. (45)

Las células musculares lisas son las responsables de la actividad contráctil del tubo digestivo. Se pueden distinguir dos tipos de contracciones: Contracciones de corta duración, más o menos rítmicas, llamadas fásicas; y contracciones de larga duración llamadas tónicas. (45)

Los tipos principales de movimiento intestinal son dos: segmentación y peristaltismo.

a) Segmentación es el más frecuente en el intestino delgado y consiste en contracciones de la capa muscular circular en zonas muy próximas (en el duodeno es de 11-12 contracciones por minuto y en el íleon de 8-9), esto provoca la división del intestino en segmentos pequeños, vecinos. Cuando esa segmentación es rítmica, las contracciones son alternadas, es decir, un segmento se contrae y enseguida se relaja y así sucesivamente; este tipo de movimientos da como consecuencia un eficaz mezclado del quimo con las secreciones digestivas, y permite un óptimo contacto con la superficie mucosa intestinal. Normalmente se dan una serie de contracciones seguidas de un periodo de reposo. (46).

b) Peristaltismo consiste en contracciones de secciones sucesivas del músculo liso circular, provocando el movimiento del contenido intestinal en forma anterógrada. El movimiento peristáltico en corto también tiene lugar en el intestino delgado pero con menor frecuencia que los movimientos de segmentación. Las ondas peristálticas raramente atraviesan más de 10 cm de intestino y, debido a la baja frecuencia de propulsión del quimo, es en esta zona donde preferentemente se efectúa la digestión y la absorción. La peristalsis se encuentra regulada sobre todo por la acción nerviosa del plexo

mientérico en la pared intestinal, esto es, por el sistema nervioso regulador del propio aparato GI (46).

2.2.3 INERVACIÓN EXTRÍNSECA:

El intestino recibe una inervación extrínseca doble del sistema nervioso autónomo; la actividad parasimpática colinérgica casi siempre aumenta la actividad del músculo intestinal, y la actividad noradrenérgica simpática suele disminuirla, al tiempo que induce las contracciones de los esfínteres. Las fibras preganglionares parasimpáticas consisten en cerca de 2 000 eferencias vagales y otras eferencias en los nervios sacros. Por lo general terminan en las células nerviosas colinérgicas de los plexos mientérico y submucoso. Las fibras simpáticas son posganglionares, pero muchas de ellas terminan en las neuronas colinérgicas posganglionares, donde la noradrenalina que secretan inhibe la secreción de acetilcolina mediante la activación de los receptores presinápticos α_2 . Al parecer, otras fibras simpáticas terminan justo en las células musculares lisas intestinales. Otras fibras más inervan los vasos sanguíneos, donde producen vasoconstricción. Al parecer, los vasos sanguíneos intestinales tienen una doble inervación una extrínseca noradrenérgica y una intrínseca por fibras del sistema nervioso entérico. El péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el óxido nítrico (ON) están entre los mediadores de la inervación intrínseca, la cual parece que, entre otras, es la encargada de la hiperemia que acompaña a la digestión de alimento. Aun no se establece si hay inervación colinérgica para los vasos sanguíneos. (43)

2.2.4 INERVACIÓN INTRÍNSECA - SISTEMA NERVIOSO ENTÉRICO

Existen dos redes principales de fibras nerviosas intrínsecas del tubo digestivo: el plexo mientérico (plexo de Auerbach), entre las capas musculares longitudinal y circular media, y el plexo submucoso (plexo de Meissner), entre la capa circular media y la submucosa. En conjunto, estas neuronas constituyen el sistema nervioso entérico. El sistema contiene cerca de 100 millones de neuronas sensoriales, interneuronas y neuronas motoras en los humanos, tantas como existen en toda la médula espinal, y es probable que sea más correcto considerar este sistema como una parte

desplazada del SNC que se encarga de regular la función digestiva. Está conectado con el SNC mediante fibras parasimpáticas y simpáticas, pero puede funcionar de manera autónoma sin estas conexiones. El plexo mientérico inerva las capas longitudinal y circular de músculo liso y fundamentalmente se encarga del control motor, mientras que el plexo submucoso inerva el epitelio glandular, las células endocrinas intestinales y los vasos sanguíneos submucosos, por lo cual participa sobre todo en el control de la secreción intestinal. Los neurotransmisores en el sistema incluyen acetilcolina, las aminoradrenalina y serotonina, el aminoácido ácido γ-aminobutírico (GABA), la purina trifosfato de adenosina (ATP), los gases óxido nítrico (ON) y dióxido de carbono y muchos péptidos y polipéptidos diferentes. Algunos de estos péptidos también actúan por mecanismos parácrinos, y algunos entran a la corriente sanguínea, lo cual los convierte en hormonas. No resulta sorprendente que la mayor parte de éstos se encuentre también en el cerebro. (43)

2.2.5 DROGAS PARASIMPATICOLITICAS O ANTICOLINERGICAS

Las drogas anticolinérgicas pueden ser divididas de acuerdo con el tipo de receptor que bloquean, en dos grandes grupos: Bloqueadores muscarínicos: anticolinérgicos postganglionares o verdaderos parasimpaticolíticos, y bloqueadores nicotínicos que a su vez pueden ser clasificados en dos subgrupos: Anticolinérgicos ganglionares o gangliopléjicos, y Anticolinérgicos neuromusculares o bloqueadores neuromusculares. (47)

Las acciones específicas del parasimpático (PS) son aquellas que surgen de la estimulación de los receptores muscarínicos ubicados en la terminal postganglionar neuroefectora. Por eso los agentes antimuscarínicos, bloqueadores postganglionares, son los verdaderos agentes parasimpaticolíticos. El prototipo es la atropina, droga antagonista competitiva de la acetilcolina que es capaz de desencadenar todas las acciones parasimpaticolíticas, a través del bloqueo de los receptores muscarínicos del parasimpático. (47)

Las drogas parasimpaticolíticas o anticolinérgicas comprende los siguientes grupos de fármacos:

- **Naturales:** Atropina (D-I-hiosciamina), Scopolamina (Hioscina)

- **Semisintéticas Y Sintéticas**

- ✓ Anticolinérgicos Generales: Metilnitrato de atropina, Tanato de Atropina, Metil-bromuro de Scopolamina, Butilscolopamina, Metilbromuro de homatropina, Difenamil, Propinoxato, Octatropina, Clidinio, Metascopolamina, Metantelina, Propantelina, Mepenzolato, Trimebutina, Pipoxolan, Adifenina, Valetamato.
- ✓ De Uso Oftalmológico: Eucatropina, Ciclopentolato (Cyclogil), Tropicamida.
- ✓ Antisecretor Gástrico: Pirenzepina.
- ✓ Antiasmático, broncodilatador: Ipratropio, bromuro
- ✓ Espasmolíticos Urinarios: Prifinio, Flavoxato.
- ✓ Anticolinérgicos antiparkinsonianos centrales: Trihexifenidilo, Biperideno, Orfenadrina. (47)

2.2.5.1 ATROPINA

Este fármaco (Figura N° 2.2), y compuestos afines, son antagonistas competitivos de la acetilcolina; en el caso del músculo liso intestinal compiten por el sitio de unión en el receptor muscarínico M3, de ahí que una de sus acciones farmacológicas sea la antiespasmódica. Actúan como antidiarreicos porque el efecto antimuscarínico retarda el paso del contenido gastrointestinal favoreciendo la reabsorción de líquidos. Es un alcaloide de la belladona (*Atropa belladonna*), es un éster formado por el ácido trópico y la base orgánica tropina (tropanol). La acción antimuscarínica se debe al éster intacto de la tropina y al grupo hidroxilo libre presente en la molécula, ni el ácido libre ni la base presentan acción antimuscarínica significativa. (6)

MECANISMO DE ACCIÓN

La atropina ejerce su acción a través de un antagonismo competitivo con la acetilcolina y otros antagonistas colinérgicos, por los receptores muscarínicos. El antagonismo como es de tipo competitivo, puede ser superado si se incrementa la concentración de acetilcolina en los sitios receptores. (47)

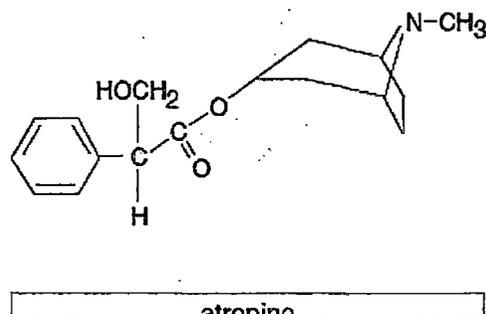


Figura N° 2.2: Atropina.

Fuente: Charles D. Ciccone 2007(48)

ATROPINA SULFATO

❖ Indicaciones:

- ✎ Coadyuvante de la anestesia general: reduce la secreción gástrica, salival y tráqueo-bronquial; previene la bradicardia refleja, para sinusal e hipotensión por reflejo vagal, anestésicos y manipulación quirúrgica.
- ✎ Antiespasmódico.
- ✎ Envenenamiento por inhibidores de la acetilcolinesterasa (órganos fosforados y carbamatos).
- ✎ Coadyuvante de neostigmina o piridostigmina, para revertir bloqueo neuromuscular no despolarizante (previene efectos muscarínicos de estos fármacos, como bradicardia y aumento de secreciones).
- ✎ Bradicardia: sinusal, bloqueo aurículo-ventricular y en asistolia.
(49)

❖ Dosis:

- ✎ **Adultos:** Coadyuvante de la anestesia: 0,2 a 0,6 mg IM, entre media y una hora antes de la cirugía.
Antídoto de inhibidores de la acetilcolinesterasa: 2 a 4 mg IV inicialmente; luego, 2 mg repetidos cada 5 a 10 min hasta completar atropinización.
Antiespasmódico: 0,4 a 0,6 mg IM, IV ó SC c/4 a 6 h.
Antiarrítmico: 0,4 a 1 mg IV c/1 a 2 h, según necesidad máximo hasta 2 mg.

✧ **Niños:** La dosis en niños generalmente varía entre 0,01 y 0,03 mg/kg.

Antídoto de inhibidores de la acetilcolinesterasa: 0,05 mg/kg/dosis IV; repetir cada 5 min hasta completar atropinización y, para mantenimiento de este estado, repetir dosificación c/1 a 4 h. (49)

❖ **Farmacocinética**

Buena absorción por vía SC o IM. La inhibición de la salivación ocurre dentro de los 30 min. o 1 h y de 1 ó 2 h luego de la administración IM o VO respectivamente, persistiendo por 4h. Tiene buena distribución tisular; cruza la BHE y placentaria. Tiene una unión a proteína plasmática del 50 % y un Vd de 1-6L/Kg. Tiene un t $\frac{1}{2}$ plasmático de 2-3h y un t $\frac{1}{2}$ de eliminación de 12,5h o más. Es biotransformada en el hígado a metabolitos y excretada principalmente por la orina. Aproximadamente el 77-94 % de la dosis por vía IM es excretada por la orina dentro de las 24h. Del 30-50 % de la dosis es excretada en forma inalterada y cerca del 33 % como metabolitos. (49)

❖ **Precauciones**

- ✧ **Embarazo:** cruza la barrera placentaria, puede producir taquicardia fetal.
- ✧ **Lactancia:** se distribuye en leche materna; evitar el uso crónico, puede inhibir secreción láctea.
- ✧ **Pediatría:** mayor riesgo de toxicidad.
- ✧ **Geriatría:** reducir dosis por mayor riesgo a efectos cardiovasculares, del SNC y anticolinérgicos (retención urinaria en hombres).
- ✧ **Insuficiencia hepática:** disminuye su metabolismo y aumenta toxicidad.
- ✧ **Insuficiencia renal:** disminuye su excreción y puede incrementar su toxicidad.
- ✧ **Hipertiroidismo, enfermedad isquémica coronaria, taquicardias, ICC. Hipertrofia prostática.**
- ✧ **Colitis ulcerativa, esofagitis de reflujo y hernia hiatal.**
- ✧ **Fiebre especialmente en niños:** por supresión de la actividad de las glándulas sudoríparas.

☞ Glaucoma de ángulo agudo, miastenia grave.(49)

❖ **Contraindicaciones:** Hipersensibilidad a atropina. Obstrucción intestinal, íleo paralítico o atonía intestinal, megacolon tóxico, dolor abdominal en niños. (49)

❖ **Reacciones adversas**

☞ **Frecuentes:** estreñimiento, disminución de sudoración, sequedad de la boca.

☞ **Poco frecuentes:** taquicardia, visión borrosa, midriasis, fotosensibilidad.

☞ **Raras:** reacciones alérgicas, aumento de presión intraocular, hipotensión ortostática; dificultad para orinar, somnolencia, cefalea, pérdida de la memoria, confusión, náusea, vómito, debilidad y fiebre. (49)

❖ **Interacciones.**

☞ **Medicamentos Anticolinérgicos:** efectos aditivos.

☞ **Ciclopropano:** pueden producirse arritmias ventriculares.

☞ **Cisaprida y metoclopramida:** los efectos de éstos son antagonizadas por la atropina.

☞ **Halotano:** disminuye la bradicardia inducida por este anestésico.

☞ **Opiáceos:** incrementan sus efectos gastrointestinales como estreñimiento.

☞ **Alcalinizadores de la orina:** disminuye su excreción urinaria.(49)

❖ **Presentación:** Inyectable 1 mg/mL y 0,5 mg/mL

❖ **Almacenamiento y estabilidad:** Almacenar a temperatura ambiente. (49)

2.2.6 DROGAS PARASIMPATICOMIMÉTICAS O COLINÉRGICAS

Las drogas parasimpaticomiméticas poseen como actividad farmacológica principal la de activar directa o indirectamente los receptores colinérgicos muscarínicos del sistema parasimpático. Es decir que estimulan la unión neuroefectora de este sistema. Por lo tanto su acción fundamental se asemeja o es similar a los efectos de la estimulación parasimpática. (50)

De allí su denominación de parasimpaticomiméticos. Comprende los siguientes grupos de fármacos:

- ☞ Esteres de la colina (carbacol, betanco, metacolina y acetilcolina).
- ☞ Alcaloides colinomiméticos (pilocarpina, arecolina, muscarina).
- ☞ Agentes anticolinesterasas (de acción reversible y de acción irreversible). (50)

2.2.6 MECANISMO DE ACCIÓN.

Los ésteres de la colina son drogas agonistas de acción directa capaces de estimular los receptores muscarínicos o postsinápticos del parasimpático. Las acciones farmacológicas y sus usos terapéuticos dependen básicamente del conocimiento de la ubicación de dichos receptores y de las acciones que se generan con su estimulación. Dichas acciones se encuentran especificadas en el cuadro N° 2.1 (50)

CUADRO N° 2.1

ALGUNAS PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE LOS COLINÉSTERES							
		ACCIONES FARMACOLÓGICAS					
Colinester	Sensibilidad de las colinesterasas	Muscarínicos					Nicotínicos
		Cardio-vasculares	Gastro-intestinales	Vejiga urinaria	Ojo	Antagonismo por la atropina	
Acetilcolina	+++	++	++	++	+	+++	++
Metacolina	+	+++	++	++	+	+++	+
Carbacol	-	+	+++	+++	++	+	+++
Betanecol	-	+/-	+++	+++	++	+++	-

Fuente: Goodman- Gilman-1998 (50)

Los alcaloides colinomiméticos son también agonistas de acción directa. Los agentes anticolinesterasa de acción reversible e irreversible producen sus efectos primarios parasimpaticomiméticos por inhibición de la enzima acetilcolinesterasa. Ello produce una acumulación de acetilcolina endógena en las sinapsis colinérgicas y en la unión neuroefectora. Por eso se los denomina también estimulantes colinérgicos de acción indirecta. (47)

La activación de los receptores muscarínicos desencadena diferentes mecanismos dependiendo del subtipo de receptor y de su ubicación. Los receptores colinérgicos en el músculo cardíaco por ejemplo producen luego de su activación una inhibición de la adenilciclase y como consecuencia una

disminución del AMPc disponible y de la actividad de proteinkinasa dependientes de AMPc. Ello ocasiona apertura de canales de potasio y una corriente de hiperpolarización en el nódulo S-A, A-V con la producción de bradicardia. El efecto inotrópico negativo se relaciona con cambios paralelos en los canales de Ca⁺⁺. (47)

En otros tejidos o células que se encuentran bajo la influencia parasimpática se desarrollan mecanismos intracelulares diferentes. Así por ejemplo en algunos músculos lisos, la interacción del receptor con el agonista colinérgico altera los niveles de otros segundos mensajeros como el GMPc, IP3 o DAG con participación de proteínas reguladoras inhibitoras (Gi) o estimulantes (Gs). La activación con la proteína Gs, estimuladora, activa fosfolipasa C que actuando sobre los fosfoinositoles de la membrana da origen a IP3 y DAG, el IP3 moviliza Ca⁺⁺ intracelular y desencadena fenómenos dependientes de Ca⁺⁺ como contracción de músculo liso, secreción glandular. (47)

2.2.6.2 ACETILCOLINA

El compuesto químico acetilcolina (figura N°2.3) fue el primer neurotransmisor identificado. Está ampliamente distribuido en el sistema nervioso central y en el sistema nervioso periférico. Es un éster de ácido acético y colina con fórmula química:

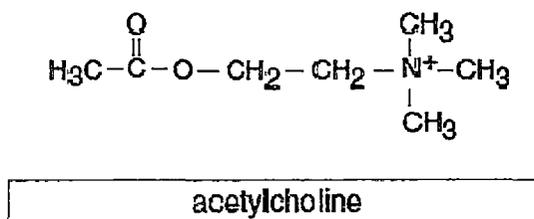


Figura N° 2.3: Acetilcolina

Fuente: Charles D. Ciccone 2007 (48)

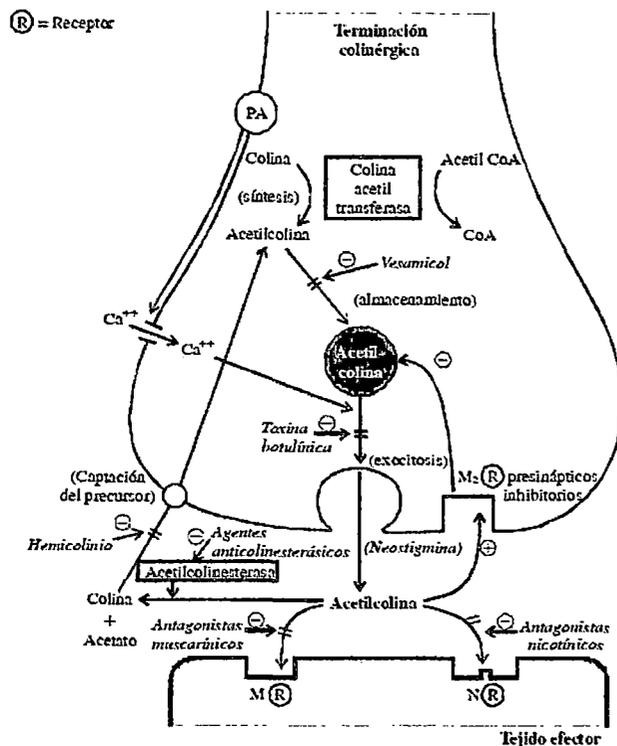
La acetilcolina es sintetizada en el interior de la terminación nerviosa colinérgica a partir de la colina (figura N° 2.4), la cual es captada hacia la terminación mediante un sistema de transporte activo. Parte de la colina (50%) obtenida a partir de la hidrólisis enzimática de la acetilcolina es

recapturada por la terminación nerviosa. La acetil-CoA (acetilcoenzima A) es el otro precursor de la acetilcolina. Esta reacción es catalizada por la enzima colina acetiltransferasa, la cual se encuentra localizada en el citoplasma de la terminación nerviosa colinérgica. El paso limitante de la velocidad de la reacción de síntesis de acetilcolina, radica en el transporte activo de la colina por el mecanismo de captación antes descrito hacia el interior de la terminación colinérgica, el cual es regulado de acuerdo con la liberación del neurotransmisor. (51)

La mayor parte de la acetilcolina sintetizada es transportada y almacenada en las vesículas sinápticas (donde alcanza muy altas concentraciones) en contra del gradiente de concentración. La acumulación de acetilcolina en las vesículas se realiza mediante un sistema de transporte activo, mediado por una proteína transportadora de aminas, las cuales son responsables de la acumulación de los transmisores aminérgicos, tanto en la membrana plasmática de la terminación nerviosa, como a través de la membrana de la vesícula sináptica. La liberación del neurotransmisor colinérgico de la vesícula sináptica ocurre por exocitosis, desencadenada por la entrada de calcio al interior de la terminación nerviosa, debido a la llegada del potencial de acción. (51)

El neurotransmisor colinérgico no requiere ser captado hacia el interior de la terminación nerviosa para su posterior inactivación enzimática, ya que la enzima que se encarga de metabolizarlo. La acetilcolinesterasa, se encuentra localizada en el exterior de la célula (en el espacio sináptico, unida a la membrana entre el órgano efector y la terminación nerviosa). Esta localización en el espacio sináptico permite que la acetilcolina liberada sea muy rápidamente degradada mediante hidrólisis, por lo que la acción del neurotransmisor será muy breve aunque la duración de esta puede variar en dependencia del sitio de acción. (51)

Figura N° 2.4



Leyenda: M@: receptores muscarínicos. N@: receptores nicotínicos. PA: potencial de acción. Ca: calcio.
 Figura 4: Pasos básicos de la neurotransmisión colinérgica y sitios de acción de los fármacos que la afectan.

Fuente: Moron Francisco et al (51)

2.2.7 SISTEMA RECEPTOR COLINÉRGICO

Los receptores colinérgico son complejos moleculares que en las células del organismo reciben selectivamente la señal de la acetilcolina y de otros agentes relacionados con ella, y responden transformándola en una respuesta celular específica. Se clasifican en 2 tipos: muscarínicos y nicotínicos. (51)

La biología molecular ha confirmado dos tipos de receptores cuya estructura, naturaleza, localización y funciones son completamente diferentes. Los receptores muscarínicos pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G (metabotrópicos), mientras que los nicotínicos forman parte de la familia de los receptores acoplados a canales iónicos (ionotrópicos) (51).

2.2.7.1 RECEPTORES MUSCARÍNICOS

Son elementos esenciales en la transmisión colinérgica de diversos procesos fisiológicos: transmisión interneuronal en el SNC, ganglios autonómicos y plexos nerviosos (ejemplo, gastrointestinales), génesis y conducción de estímulos cardíacos, contracción de músculo liso y secreción de glándulas exocrinas. (51)

Hasta hace pocos años se consideraba que los receptores muscarínicos eran de una sola especie, pero la aparición del antagonista selectivo pirenpezina inicio un proceso de diferenciación de estos receptores que ha seguido 2 líneas: la farmacológica, que ha permitido caracterizar 3 subtipos de receptores muscarínicos (M1, M2 Y M3) y la molecular, que ha culminado en el clonaje de 5 subtipos (m1, m2, m3, m4, y m5). Existe poca información sobre la naturaleza y localización celular de los receptores m4 y m5. (51)

Los receptores M1 (subtipo neuronal) se localizan preferentemente en neuronas del SNC (ganglios basales y núcleo del tracto solitario) y en las neuronas ganglionares del sistema vegetativo (ganglios autonómicos), incluidos las de los plexos mientéricos de la pared gástrica. La activación de los receptores M1 produce efectos exitatorios:

- ✓ Ganglios autónomos: despolarización de neuronas posganglionares (generación del potencial postsináptico excitatorio tardío). La activación de receptores M1 ganglionares constituye una vía secundaria de la transmisión ganglionar.
- ✓ Plexo mientérico: aumento de la actividad de las neuronas del plexo mientérico. La activación de receptores M1, en las neuronas del plexo mientérico de la pared gástrica, produce aumento de la secreción gástrica acida por estimulación de las células parietales. (51)

Los receptores M2 (sub tipo cardiaco) predominan en el corazón (nodos sinoauricular y auriculoventricular, musculo auricular) en las terminaciones presinápticas de neuronas centrales periféricas. La activación de estos receptores produce efectos inhibitorios:

- ✓ Terminaciones nerviosas colinérgicas: reducción de la liberación de la acetilcolina; este efecto se debe a la activación de receptores M2 presinápticos que se comportan como autorreceptores.
- ✓ Terminaciones nerviosas adrenérgicas: reducción de la liberación de noradrenalina debido a la activación de receptores M2 presinapticos que en este caso se comportan como heterorreceptores.
- ✓ Corazón: reducción de la frecuencia cardiaca (efecto cronotrópico negativo), enlentecimiento de la velocidad de conducción en nodos

sinoauriculares y auriculoventricular (efecto dromotrópico negativo) y reducción de la fuerza de contracción cardiaca (efecto mayor en el musculo auricular que sobre el ventricular). Todos estos efectos se deben principalmente a la activación de receptores M2 posinapticos, aunque pueden ser también producidos por reducción de la liberación de noradrenalina desde las fibras adrenérgicas cardiacas, como resultado de la activación de receptores M2 presinapticos (heterorreceptores). (51)

Los receptores M3 (subtipo glandular/ músculo liso) se localizan en mayor medida en células secretoras y células musculares lisas. La activación de estos receptores produce principalmente efectos excitatorios:

- ✓ Glándulas exocrinas: aumento en las secreciones lagrimal, nasofaríngea, salival, traqueobronquial, digestiva, pancreática y sudorípara.
- ✓ Músculo liso: contracción de casi todos los tipos de músculo liso (traqueobronquial, gastrointestinal, detrusor vesical, esfínger pupilar y musculo ciliar).
- ✓ Hígado: aumento de la síntesis de glucógeno hepático (gluconeogénesis).
- ✓ Órganos sexuales: erección masculina.(51)

La activación de los receptores M3 puede también producir efectos inhibitorios: relajación de algunos tipos de músculo liso (vascular, esfínteres del tracto gastrointestinal, trígono y esfínter vesical). (51)

2.2.7.2 RECEPTORES NICOTÍNICOS

Los receptores nicotínicos se encuentran en la unión neuromuscular, en las neuronas posganglionares sinápticas y parasimpáticas y en diversas localizaciones del SNC. Los estudios farmacológicos iniciales mostraban ciertas diferencias entre los receptores de la unión neuromuscular y de los de las células nerviosas, debido a que la afinidad y especificidad eran algo diferentes. Estas diferencias se han confirmado por clonación molecular, y actualmente se acepta la existencia de 2 subtipos de receptores nicotínicos: el Nm (subtipo muscular) y el Nn (subtipo neuronal). (51)

El subtipo Nm se localiza en la membrana de la placa motora terminal (unión neuromuscular) y su activación desencadena el proceso de transmisión neuromuscular (despolarización de la placa terminal y generación del potencial de acción muscular), que conduce a la contracción del músculo estriado esquelético. (51)

El subtipo Nn se localiza en diferentes sitios:

- ✓ Ganglios autónomos: la activación de los receptores Nn localizados en la membrana de las neuronas posganglionares desencadena el primer acontecimiento de la neurotransmisión ganglionar (despolarización rápida de los sitios postsinápticos y generación del potencial postsináptico excitatorio inicial). El estímulo de los receptores constituyen la vía primaria de la neurotransmisión en los ganglios del sistema vegetativo.
- ✓ Médula suprarrenal: la activación de los receptores Nn localizados en la membrana de las células cromafines (neuronas posganglionares modificadas que secretan adrenalina y noradrenalina al torrente sanguíneo) produce aumento de la secreción de catecolaminas.
- ✓ Neuronas del SNC: No están claramente definidos los efectos producidos por la activación de receptores Nn en estas neuronas. (51)

2.2.8 ALTERACIONES DE LA MOTILIDAD

Los trastornos motores pueden originar tres tipos de patología:

- ❖ Enlentecimiento del tránsito sin que haya obstáculo mecánico (gastroparesia). Puede ocurrir por ejemplo en los diabéticos, que se quejaron de indigestión. La gastroparesia en los períodos interdigestivos conlleva que las partículas grandes e indigeribles que quedan en el estómago tras la digestión y que se manda en el periodo interdigestivo, se acumulan y forman grandes masas llamadas BEZOARES. (52)
- ❖ Aceleración del tránsito que sucede en:
 - ☞ Vagotomía, no hay reflejo de acomodación, de manera que el estómago no se dilata para aceptar el alimento, y se produce

un aumento de la presión intragástrica que desencadena el dumping y el rápido vaciamiento gástrico.

✎ Úlcera duodenal, el contacto del ácido con la mucosa produce un reflejo para expulsar el agresor rápidamente (paradójico, pues el quimo ácido debería retardar el vaciamiento). (52)

❖ **Movimientos retrógrados:**

✎ Reflujo gastroesofágico.

✎ Reflujo duodenogástrico, no es del todo patológico, pues puede darse de modo natural. Puede producir gastritis y úlceras por la acción de la bilis y enzimas pancreáticas. (52)

El dumping es un síndrome que se produce cuando se altera el control de la evacuación (vagotomía, resección parcial del estómago, anastomosis con intestino, piloroplastía). Se manifiesta como: sensación de plenitud (por falta de acomodación). Debilidad, sudoración y palpitations posprandiales, distensión brusca de la pared próxima del intestino, por el rápido vaciamiento gástrico, excesiva secreción de agua y bicarbonato para neutralizar el ácido gástrico ello produce hipovolemia, hipotensión y reflejo simpático, excesiva secreción de insulina, pues se absorbe toda la glucosa ingerida bruscamente, produciendo hipoglucemia. (52)

ESPASMOS GÁSTRICOS

Son contracciones bruscas y violentas de la pared gástrica. Según su causa pueden ser de origen:

- ❖ Local, en la úlcera gástrica se produce un espasmo reflejo en la curvatura opuesta a la úlcera. Este espasmo puede ser responsable del dolor de la úlcera.
- ❖ Regional, se puede producir un espasmo como reflejo ante una lesión del duodeno, páncreas o vesícula biliar.
- ❖ Central, espasmos producidos por lesiones en el SNC, como por ejemplo en la tetania, corea, tabes dorsal o psicógena. (53)

2.2.9 DOLOR ABDOMINAL

El dolor abdominal es uno de los síntomas por el que con más frecuencia acude el paciente a Urgencias, constituyendo casi el 85% de las asistencias a urgencias, sobre todo si aparece bruscamente. Es un síntoma frecuente que puede aparecer en la mayoría de los trastornos intraabdominales; sin embargo, también puede ser la manifestación principal de afecciones localizadas fuera de la cavidad abdominal. (54)

Las causas desencadenantes del dolor abdominal se pueden agrupar en tres grandes grupos: de tipo mecánico, de tipo inflamatorio y de tipo isquémico. (55)

- ✧ **Mecánicos:** Son la tracción, la distensión y estiramiento sobre las capas musculares de las vísceras huecas, el peritoneo y la cápsula de las vísceras macizas; es importante que se produzca de modo brusco pues una instauración progresiva puede no ocasionar dolor.(55)
- ✧ **Inflamatorio:** La liberación de sustancias implicadas en el proceso inflamatorio tanto físico como infeccioso es un poderoso estímulo doloroso. (55)
- ✧ **Isquémicos:** El cese de riego sanguíneo a una víscera, ya sea primario por embolia o trombosis o secundario por torsión de su pedículo vascular, provoca dolor debido a la irritación que provoca la concentración de determinados metabolitos tisulares. Hay que tener en cuenta también la diferente sensibilidad de las estructuras intra-abdominales, así por ejemplo la mucosa de casi todo el tubo digestivo no aprecia sensación dolorosa, las vísceras huecas son más sensibles al aumento de presión, el peritoneo visceral es prácticamente indoloro y que existen unas zonas denominadas "áreas silenciosas" (cámara gástrica y ciego) que no provocan dolor hasta que no se produce irritación peritoneal u obstrucción. (55)

Existen tres tipos de dolor abdominal:

- ✧ Dolor visceral: Está originado en los órganos abdominales. Es de carácter sordo y mal localizado. En ocasiones aparece como una sensación de plenitud abdominal. También puede ser de tipo cólico (como un retortijón, sugiere una causa de origen intestinal), acompañándose de náuseas, vómitos, palidez y sudoración.(55)
- ✧ Dolor parietal: Está originado en estructuras de la pared abdominal. Se agrava con los movimientos y aumenta con la palpación.(55)
- ✧ Dolor referido: Se percibe en regiones anatómicas diferentes a la zona de estimulación y se produce porque esta zona de estimulación comparte segmento neuronal sensorial con el área dolorosa. Por ejemplo, se puede tener dolor en el hombro derecho y padecer una colecistitis o un cólico biliar, o tener dolor entre ambas escápulas y estar sufriendo la disección de un aneurisma de aorta torácica, o tener dolor en la boca del estómago y acabar teniendo a las pocas horas un proceso de apendicitis localizando el dolor en la fosa ilíaca derecha. (55)

2.2.10 TIPOS DE COMPUESTOS ANTIESPASMÓDICOS

- ❖ **Flavonoides.** Este grupo ha merecido atención especial en los últimos tiempos. Existen flavonoides que han sido propuestos para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales como úlceras y diarrea aguda. La actividad espasmolítica de algunos flavonoides se ha indicado hace tiempo. En el sistema gastrointestinal, los flavonoides antiespasmódicos prolongan el tiempo de tránsito en el intestino delgado, inhiben la amplitud de la contracción fásica y disminuyen el tono de IAC (íleon aislado de cobayo), y antagonizan las contracciones inducidas en preparaciones de órgano aislado intestinal por varios agentes, entre ellos prostaglandinas E2, ACh, BaCl2. (56)
- ❖ **Aceites esenciales.** Son mezclas complejas de **terpenos**. Se señalan amplias perspectivas de uso y potencial farmacológico de los aceites esenciales vegetales, principalmente en las áreas farmacéutica y

alimenticia. Se mencionan algunos componentes antiespasmódicos de aceites esenciales, entre ellos 1,8 cineol y eugenol (*Ocimum gratissimum*), timol (*Thymus membranaceus*, *Acalypha phleoides*), carvacrol (*Satureja hortensis*), estragol y anetol (*Croton zehntneri*), α y β -pinenos (*Ferula gummosa*), nonanal (*Artemisia ludoviciana*), linalol (*Lavandula angustifolia*). (6)

- ❖ **Alcaloides.** Estos compuestos, caracterizados por la presencia de nitrógeno en su estructura, de carácter básico y con actividad fisiológica, tienen muy importantes antecedentes en el rubro de antiespasmódicos naturales; por ejemplo, atropina, papaverina y codeína.(6)
- ❖ **Taninos:** en uso interno son antidiarreicos y, además de disminuir el peristaltismo, tienen acción antiséptica; esta acción se ejerce también en uso externo, por lo que son útiles en el tratamiento de dermatosis (57). Los gallotaninos y ellagitaninos como la punicalina y punicalagina poseen acción antiespasmódica (58) (59).

2.2.11 EQUIPO DE ORGANOS AISLADOS

2.2.11.1 BAÑO DE ÓRGANOS

Los fenómenos homeostáticos en los órganos aislados tienen un nivel menos elevado que en el organismo entero, ya que en la mayoría de las regulaciones reflejas se suprimen y solo quedan los fenómenos nerviosos, atribuibles a los plexos intramurales existentes, sin embargo, se observa la existencia de mecanismos de autorregulación, cuya importancia no debe ser ignorada. Lo que concierne a la experimentación farmacológica, es importante anotar que los órganos aislados se encuentran en condiciones muy diferentes a las de los órganos in situ en cuanto a los aportes nutritivos y muy especialmente a lo referente a las posibilidades de recuperación frente a las diversas formas de estímulo a las que pueden ser sometidos. (60)

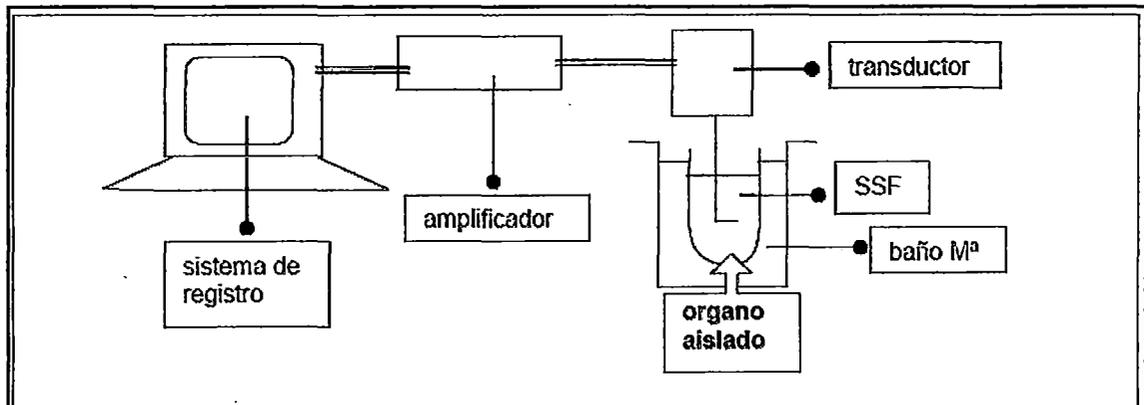
La temperatura inferior a la temperatura óptima, aumenta el tiempo de latencia y la duración de las respuestas en la fibra muscular lisa. Entre los factores químicos más importantes, debemos destacar la composición de los medios con que se pretende nutrir al órgano durante la experiencia y sobre

todo el balance de los iones sodio, potasio, calcio y el equilibrio ácido-básico, estos factores también pueden acarrear modificaciones en la reactividad de los diferentes órganos. (60)

Igualmente es importante mantener un pH óptimo y concentraciones de oxígeno y anhídrido carbónico adecuadas en el medio de cultivo. Finalmente debe tenerse en cuenta que los diferentes órganos que pueden ser utilizados en experimentación farmacológica están constituidos por tres clases diferentes de tejido muscular: liso, estriado y cardiaco; que al cumplir una función particular nos indican el tipo de estudio que sobre ellos podemos realizar. El equipo para órganos aislados comprende un conjunto de materiales necesarios para realizar experiencias en órganos en animales; como se esquematiza en la figura N° 2.5. (60)

Figura N°2.5

Esquema de los elementos necesarios para la realización de un experimento con órgano aislado.



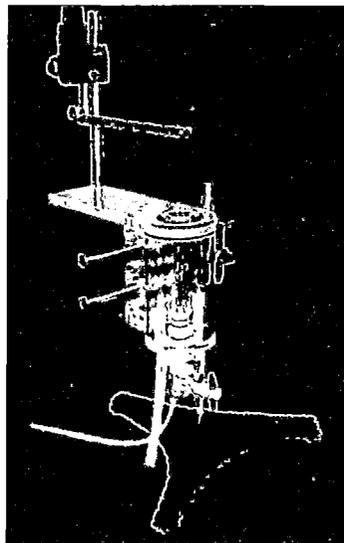
Fuente: Experimento en órgano aislado (60)

En realidad, son varios elementos que constituyen un sistema que intenta reproducir las condiciones físico-químicas fisiológicas necesarias para que el órgano responda. (60)

- ❖ **Copa de Tejido:** Es un vaso de cristal de volumen fijo (figura 2.6), en el que se dispone la pieza de tejido mediante un sistema de sujeción (varilla). Esta copa se llena de solución nutritiva y se sitúa inmersa en el "baño" propiamente dicho.

Recibe una entrada para aireación y una conducción regulable para el medio de incubación. Se debe comprobar que el llenado de la copa se efectúa siempre al mismo nivel. Los fármacos se administran con una pipeta o una jeringa en el interior de la copa. El volumen de solución de fármaco añadido total no debe ser superior al 10% del volumen total de la copa. (60)

Figura N° 2.6
Copa De Baño De Órganos



PanLab Technology
Bloresearch (61)

- ❖ **Aireación:** Se realiza a través de conducciones adecuadas, regulables, a partir de aireadores (aire) o botellas de gas (oxígeno o carbógeno, que contiene 95% O₂ y 5% CO₂). Habitualmente se utiliza carbógeno, salvo en caso de mayor requerimiento metabólico (músculo esquelético) en el que se utiliza oxígeno. Cuando el medio contiene NaHCO₃ como tampón, conviene utilizar carbógeno, ya que el oxígeno puro haría perder CO₂ y el pH se elevaría hasta valores mayores de 8, con el consiguiente deterioro de la actividad del órgano.(60)
- ❖ **Temperatura:** El control de la temperatura se realiza mediante un "baño maría" con un termostato, en el cual se encuentra introducida la copa de tejidos. La solución nutritiva se hace circular a través de un

serpentín sumergido, antes de alcanzar la preparación. Se debe evitar administrar las disoluciones de fármaco aún frías.(60)

- ❖ **Solución Salina Fisiológica:** Se entiende por solución salina fisiológica (SSF), aquella diseñada para mantener la viabilidad del órgano aislado. Diferentes preparados exigen distintas SSF de acuerdo a las características de cada uno. El principio que determina la composición de la SSF es la aproximación artificial a las condiciones fisiológicas del entorno en que se encuentra dicho órgano o tejido cuando forma parte del organismo. (60)

Se deben, pues, tratar de respetar los siguientes parámetros:

- ✎ Composición electrolítica
- ✎ Osmolaridad
- ✎ pH
- ✎ Presión parcial de O₂ y CO₂
- ✎ Fuente de energía (metabólica)
- ✎ Temperatura
- ✎ Tensión mecánica

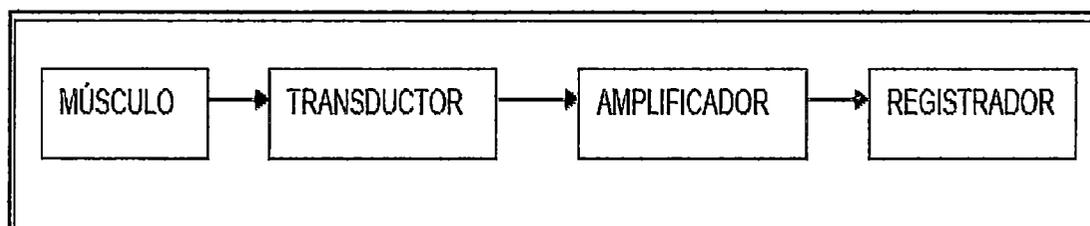
Como fuente de energía se utiliza la dextrosa y más raramente otros sustratos como sucrosa o aminoácidos (60)

- ❖ **Sistema de registro:** Está dotado de amplificador y registrador. Los cambios de tensión, es decir la contracción del músculo liso del preparado utilizado, deben ser adecuadamente amplificados a fin de obtener un registro que se pueda medir. El transductor isométrico permite la traducción de los cambios en la tensión mecánica originados por la contracción del músculo liso, en cambios de corriente eléctrica, que posteriormente serán aumentados por un amplificador al que va conectado. (60)

Este a su vez envía su señal a un registrador. La señal llega a un ordenador, que gracias al programa Chart 5.5 for Windows, registra en la pantalla la actividad mecánica del músculo (la señal eléctrica se transforma en un mensaje digital que comprende el ordenador) como se esquematiza en la figura N°2.7. (60)

Figura N°2.7

Esquema de la ruta seguida por la señal



2.2.11.2 SISTEMA POWERLAB

PowerLab es un sistema integrado de hardware y software diseñado para registrar, mostrar y analizar los datos experimentales. El sistema consta de una unidad de grabación PowerLab y programas de software (como Chart y Scope) que se ejecutan en la computadora que esta conectada al PowerLab. El PowerLab es capaz de hacer sus propios cálculos y realizar muchas tareas durante el registro de datos. (62)

Una vez que el PowerLab transfiere los datos a la computadora, estos están disponibles para su visualización, manipulación, impresión, almacenamiento y recuperación, Chart 5.5 junto con el PowerLab, tienen la capacidad de registrar gráficos, dependiendo de su hardware, puede grabar hasta 16 canales simultáneamente, con velocidades de hasta 200 000 muestras por segundo. (62)

Chart 5.5 permite gran flexibilidad en mostrar los datos. Puede cambiar las líneas, patrones y colores de la pantalla de datos. Puede ampliar o reducir la escala horizontal y vertical, dividir la pantalla, cambiar el tamaño de cada uno de los canales de mostrar u ocultar los canales. Se pueden ver las tendencias generales en la grabación, o un pequeño vistazo a la sección de datos en gran detalle. (62)

Chart 5.5 ofrece una amplia gama de cálculos y hace más fácil extraer los parámetros y estadísticas de los datos. Puede medir cantidades absolutas o relativas y calcular, almacenar y exportar más parámetros con el DataPad. Puede vincular el gráfico de datos o cuadro de datos a otras aplicaciones que el apoyo de vínculos como Microsoft Excel. (62)

Puede combinar aritméticamente datos en diferentes canales, sin problemas. Estos pueden ser realizados durante la toma de muestras o después de la grabación, dependiendo de sus requisitos. También puede utilizar la ventana del espectro para analizar las componentes de frecuencia de sus datos. (62)

2.3 GLOSARIO

ESPASMOS GÁSTRICOS: Son contracciones bruscas y violentas de la pared gástrica. (53)

ESPASMO: Contracción muscular violenta, mantenida y dolorosa, en un músculo o grupos musculares, de etiología y fisiopatología diversa. (63)

ANTIESPASMÓDICO: Que disminuye o calma los espasmos. (63)

ACEITE ESENCIAL: Sustancia volátil obtenida mediante procesos físicos a partir de especies vegetales aromáticas, caracterizadas por una composición compleja en la que predomina derivados terpénicos (mono y sesquiterpénicos) y fenilpropánicos; pueden ser considerados como el grupo fitoquímico más importante dentro de aquellos que confieren olor a las especies vegetales que los contiene. (57)

PROPIEDADES ESPASMOLÍTICAS: Algunos extractos se muestran eficaces para disminuir o suprimir los espasmos gastrointestinales, intensifican la secreción gástrica, por lo que se han calificado como digestivo y estomáquico. (4)

EX VIVO: (De una reacción biológica) que se produce en un aparato de laboratorio. (64)

IN VIVO: latín: dentro de lo vivo; significa "que ocurre o tiene lugar dentro de un organismo". En ciencia, in vivo se refiere a experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto. Pruebas con animales y los ensayos clínicos son formas de investigación in vivo. (65)

BAÑO DE ORGANOS AISLADOS: Conjunto de materiales necesarios para realizar experiencias en órganos aislados. En realidad, son varios elementos que constituyen un sistema que intenta reproducir las condiciones físico-químicas, fisiológicas necesarias para que el órgano responda. (60)

TRÁNSITO INTESTINAL: Estudio radiológico realizado con contraste, ingerido por vía oral o introducido mediante sonda, para la valoración morfológica y funcional del intestino delgado, obteniéndose imágenes con fines diagnósticos. Distancia recorrida del marcador (carbón activado) por el tracto digestivo. (63)

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO: Es la sustancia resultante de la evaporación total del macerado del pulverizado de la planta (66)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES.

MATERIAL BIOLÓGICO.

❖ Muestra vegetal:

Se utilizaron 10 kg de hojas, flores y tallos tiernos de la especie vegetal *Artemisia absinthium* L.

Animales de experimentación:

Se utilizaron 60 ratones albinos machos y 24 Cobayos machos y hembras.

❖ Patrón Comparativo Antiespasmódico

Atropina sulfato (Solución intravenosa) 1mg/ml.

MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO.

❖ Materiales de campo:

- ✎ Cuaderno de campo.
- ✎ Tijeras de podar.
- ✎ Bolsas de polietileno.
- ✎ Papel periódico.
- ✎ Cámara fotográfica.

❖ Materiales de laboratorio:

- ✎ Tubos de ensayo.
- ✎ Vaso de precipitados: 50, 100, 200, 500 mL.
- ✎ Matraz: 50, 100 mL.
- ✎ Probetas graduadas: 10, 50, 100mL.
- ✎ Baguetas.
- ✎ Pipetas de 1 mL, 5mL, 10mL.
- ✎ Pipetas pasteur.
- ✎ Fiolas de 10mL, 25mL, 50mL, 100mL, 250mL, 500mL, 1L.
- ✎ Gradillas.
- ✎ Pinzas de tres dedos.
- ✎ Papel filtro.
- ✎ Goteros.

- ☞ Lunas de reloj.
 - ☞ Placas petri.
 - ☞ Embudos.
 - ☞ Lunas de reloj.
 - ☞ Soporte universal.
 - ☞ Jeringa 1mL, 5mL, 10mL.
- ❖ **Equipos de laboratorio:**
- ☞ Equipo de baño de órganos con copa de capacidad para 25 mL - PowerLab.
 - ☞ Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N-acoplado con un Espectrómetro de Masas Agilent 5975B.
 - ☞ Equipo de Arrastre con vapor de agua (Capacidad de 50L.)
 - ☞ Balanza analítica (Sensibilidad 0,1mg)
 - ☞ Refractómetro digital
 - ☞ Equipo de disección: pinzas, tijeras, mango de bisturí
 - ☞ Cocina eléctrica.
 - ☞ Estufa.
- ❖ **Solventes para extracción.**
- ☞ 07 litros Etanol al 70%
 - ☞ 20 litros Agua destilada.
- ❖ **Solventes y reactivos para pruebas de solubilidad:**
- ☞ Cloroformo.
 - ☞ Éter de etílico.
 - ☞ Bencina.
 - ☞ Acetona.
 - ☞ Acetato de etilo.
 - ☞ Etanol 96°, 70° y 40°
 - ☞ Reactivo de acetato de cobre
 - ☞ Hexano
 - ☞ Tween 80
- ❖ **Reactivos para Identificación Fitoquímica**
- ☞ Reactivo de Benedict

- ✧ Reactivo de Dragendorf
- ✧ Reactivo de Fehling A y B.
- ✧ Tricloruro de hierro 1%
- ✧ Hidróxido de Sodio NaOH al 0.01N.
- ✧ Hidróxido de Potasio KOH al 0.5N.
- ✧ Acido sulfúrico concentrado.
- ✧ Acido clorhídrico concentrado.
- ✧ Ninhidrina.
- ✧ Reactivo de Bajlet
- ✧ Tiras de magnesio.

❖ **Solución y fármacos de referencia**

- ✧ Solución de Ringer.
- ✧ Acetilcolina.
- ✧ Atropina sulfato 1mg/mL.

❖ **Otros materiales:**

- ✧ Cánula nasogástrica
- ✧ Frascos ámbar.
- ✧ Cronómetro.
- ✧ Jaulas metálicas.
- ✧ Motor de aire para pecera.
- ✧ Plumón indeleble.
- ✧ Cinta métrica.

3.2 DISEÑO METODOLÓGICO.

3.2.1 Tipo de estudio:

La determinación del efecto antiespasmódico de extracto hidroalcohólico al 70 % y del Aceite Esencial de *Artemisia Absinthium* L. "Ajenjo" in vivo y ex vivo fue un estudio Cuasiexperimental.

3.2.2 Diseño de la investigación:

El diseño de investigación se dividió en dos etapas:

a) Determinación del Efecto Antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del Aceite Esencial de *Artemisia Absinthium* L. "Ajenjo" in vivo.

Diseño con postprueba y grupo control

G₁	X₁	O₁
G₂	X₂	O₂
G₃	X₃	O₃
G₄	X₄	O₄
G₅	X₅	O₅
G₆	X₆	O₆
G₇	X₇	O₇
G₈	X₈	O₈
G₉	X₉	O₉

Donde:

G₁, G₂, G₃, G₄, G₅, G₆, G₇, G₈, G₉ = Grupos de 6 ratones albinos.

X₁ = 600mg/Kg Extracto hidroalcohólico 70% *Artemisia Absinthium* L.

X₂ = 800 mg/Kg Extracto hidroalcohólico 70% *Artemisia Absinthium* L.

X₃ = 1000 mg/Kg Extracto hidroalcohólico 70% *Artemisia Absinthium* L.

X₄ = 0.5mg/Kg Aceite esencial de *Artemisia Absinthium* L.

X₅ = 1mg/Kg Aceite esencial de *Artemisia Absinthium* L.

X₆ = 2mg/ Kg Aceite esencial de *Artemisia Absinthium* L.

X₇ = 1mg/Kg de Atropina (Patrón)

X₈ = Solución salina fisiológica

X₉ = Solución tween al 1%

O₁, O₂, O₃, O₄, O₅, O₆, O₇, O₈ = Medición de tránsito intestinal en los ratones albinos.

b) Determinación del Efecto Antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del Aceite Esencial de *Artemisia absinthium* L. “Ajenjo” ex vivo.

Diseño con preprueba, postprueba y grupo control:

G ₁	O ₁	X ₁	O ₂	X _A	O ₃
G ₂	O ₁	X ₂	O ₂	X _A	O ₃
G ₃	O ₁	X ₃	O ₂	X _A	O ₃
G ₄	O ₁	X ₄	O ₂	X _A	O ₃
G ₅	O ₁	X ₅	O ₂	X _A	O ₃
G ₆	O ₁	X ₆	O ₂	X _A	O ₃
G ₇	O ₁	X ₇	O ₂	X _A	O ₃
G ₈	O ₁	X ₈	O ₂	X _A	O ₃
G ₉	O ₁	X ₉	O ₂	X _A	O ₃

Donde:

G₁, G₂, G₃, G₄, G₅, G₆, G₇, G₈, G₉ = Grupos de 3 segmentos de íleon de 2cm.

X₁ = 900ug/mL Extracto hidroalcohólico 70% *Artemisia absinthium* L.

X₂ = 1200ug/ mL Extracto hidroalcohólico 70% *Artemisia absinthium* L.

X₃ = 1500ug/ mL Extracto hidroalcohólico 70% *Artemisia absinthium* L.

X₄ = 0.05mg/ mL Aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

X₅ = 0.1mg/ mL Aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

X₆ = 0.2mg/ mL Aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

X₇ = 0.03mg/ mL fármaco patrón – Atropina .

X₈ = Solución salina fisiológica

X₉ = Solución tween al 1%

X_A = Inducción con acetilcolina

O₁, O₂, O₃ = Observaciones de la amplitud de contracciones.

3.2.2 VARIABLES DE ESTUDIO:

3.2.2.1 VARIABLES IMPLICADAS

VARIABLES INDEPENDIENTES

- ❖ **Extracto Hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo".**

Definición conceptual: Es la sustancia resultante de la evaporación total del macerado del pulverizado de la planta *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) con etanol al 70%, con actividad antiespasmódica que tiene una consistencia pastosa. (66)

Definición operacional:

Naturaleza:	Cuantitativa
Escala:	Razón.
Forma de medición:	Directa
Instrumento de medición:	Balanza de sensibilidad 0.001g.
Procedimiento:	El extracto hidroalcohólico al 70% obtenido por maceración y evaporación total del solvente, a 37°C.
Indicador:	•Dosis del extracto hidroalcohólico expresado en mg/Kg. •Concentración del extracto expresado en µg/mL.

- ❖ **Aceite Esencial de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo).**

Definición conceptual: Líquido volátil insoluble en agua, producto aromático que se encuentra en diversas partes de la planta *Artemisia absinthium* L (ajenjo) caracterizada por una composición compleja en la que predomina derivados terpénicos (mono y sesquiterpénicos) y fenilpropánicos, extraído mediante destilación por arrastre de vapor; pueden ser considerados como el grupo fitoquímico más importante dentro de aquellos que confieren olor a las especies vegetales que los contiene. (57)

Definición operacional:

Naturaleza:	Cuantitativa
Escala:	Razón
Forma de medición:	Directa
Instrumento de medición:	Balanza de sensibilidad 0.001g.
Procedimiento:	El aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. obtenido mediante destilación por arrastre de vapor de agua.
Indicador:	<ul style="list-style-type: none">•Dosis de aceite esencial expresada en mg/kg de peso de los ratones albinos.•Concentración del extracto expresado en µg/mL

VARIABLES DEPENDIENTES.

DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DE *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" IN VIVO

❖ Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. en ratones albinos.

Definición conceptual.- Es la capacidad que tiene el extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) para disminuir o suprimir los espasmos o contracciones intestinales disminuyendo el tránsito intestinal.

Definición operacional:

Naturaleza:	Cuantitativa.
Escala de medición:	Razón.
Medición:	Directa.
Unidad de medida:	cm.
Instrumento de medida:	Cinta métrica.
Procedimiento:	El extracto a probar se suministra por vía oral, transcurridos 15 min se

administra 0.5 mL de una suspensión de carbón activado (2.5%) preparada en una suspensión. Después de 30 min se sacrifica los ratones, se extrae la porción del píloro al ciego y se mide el avance del carbón activado (A) y el largo total del intestino (B)

Indicador: Porcentaje de avance del marcador.

❖ **Efecto antiespasmódico del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. En ratones albinos.**

Definición conceptual.- Es la capacidad que tiene el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) para disminuir o suprimir los espasmos o contracciones intestinales disminuyendo el tránsito intestinal.

Definición operacional:

Naturaleza: Cuantitativa.

Escala de medición: Razón.

Medición: Directa.

Unidad de medida: cm.

Instrumento de medida: Cinta métrica.

Procedimiento: El aceite a probar se suministra por vía oral, transcurridos 15 min se administra 0.5 mL de una suspensión de carbón activado (2.5%) preparada en una suspensión. Después de 30 min se sacrifica los ratones, se extrae la porción del píloro al ciego y se mide el avance del carbón activado (A) y el largo total del intestino (B).

Indicador: Porcentaje de avance del marcador.

**DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DE *Artemisia absinthium* L.
“Ajenjo” EX VIVO**

- ❖ **Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. sobre las contracciones basales y frente a la inducción con acetilcolina en íleon aislado de cobayo**

Definición conceptual.- Capacidad del extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. para producir una reducción o supresión de las contracciones basales y sobre las contracciones inducidas por acetilcolina en íleon aislado de cobayo

Definición operacional:

Naturaleza:	Cuantitativa.
Escala de medición:	Razón.
Medición:	Indirecta.
Instrumento de medida:	Transductor isotónico fuerza-desplazamiento conectado a un sistema de registro.
Procedimiento:	La lectura de las contracciones basales se registró mediante un transductor isotónico señal que fue amplificada por el Bioamplificador, la lectura obtenida se registró en el software del computador (chart 5.5). Se estabilizo la lectura basal aproximadamente por 15min, luego se administro el extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones y después de dos minutos acetilcolina..
Indicador:	-Porcentaje de inhibición de la amplitud de contracciones basales. -Amplitud máxima (mV).

❖ **Efecto antiespasmódico del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. sobre las contracciones basales y frente a la inducción con acetilcolina en Íleon Aislado de Cobayo**

Definición conceptual.- Capacidad del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) para producir una reducción o supresión de las contracciones basales y sobre las contracciones inducidas por acetilcolina del íleon aislado de cobayo.

Definición operacional:

Naturaleza: Cuantitativa.
Escala de medición: Razón.
Medición: Indirecta.
Instrumento de medida: Transductor isotónico fuerza-desplazamiento conectado a un sistema de registro.

Procedimiento: La lectura de las contracciones basales se registró mediante un transductor isotónico señal que fue amplificada por el Bioamplificador, la lectura obtenida se registró en el software del computador (chart 5.5). Se estabilizo la lectura basal aproximadamente por 15min, luego se administro el aceite esencial a diferentes concentraciones y después de dos minutos acetilcolina.

Indicador: -Porcentaje de inhibición de la amplitud de contracciones.
-Amplitud máxima (mV).

3.2.2.2. VARIABLES NO IMPLICADAS

VARIABLES INTERVINIENTES

De la planta en estudio *Artemisia absinthium* L.

Época de recolección.- Se recolectó la planta en los meses de enero - abril.

Madurez de la planta.- Se recolectó *Artemisia absinthium* L. en etapa de florecimiento.

Zonas de recolección.- Se recolectó *Artemisia absinthium* L. en zonas libres de contaminación de insecticidas, lejos de áreas de cultivo.

De los animales de experimentación

Especie.- Ratones albinos *Mus m^úsculus* y cobayo tipo Hartley *Cavia porcellus*.

Edad.- Tiempo de vida del animal. Ratones albinos: 2 meses. Cobayos: 2 – 3 meses.

Sexo.- Variable de escala nominal en macho y hembra. Ratones machos y cobayos machos y hembras.

Peso.- Variable que se define como la masa que presenta cada unidad experimental. Para los ratones: 25 a 30 g y de 300 a 400g para los cobayos.

Lugar de crianza.- Ambiente con ventilación adecuada a temperatura promedio de 20°C.

3.2.2.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

De la muestra vegetal

Criterios de inclusión

- ☞ Se recolectó todas aquellas plantas de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" con hojas enteras, tallo y flores sanas.
- ☞ Estadio de crecimiento: Planta madura (solo parte aérea)
- ☞ Temperatura de secado: Temperatura ambiente.

- ✂ Condiciones de secado: Bajo sombra, en un ambiente ventilado.

Criterios de exclusión

- ✂ Se excluyeron las muestras vegetales en mal estado, que sufrieron el ataque de bacterias, hongos, plagas, o ataque de insectos.

De los animales de experimentación

Criterios de inclusión

- ✂ Se incluyeron ratones albinos machos con un peso promedio de 25 a 30g.
- ✂ Se incluyeron cobayos machos y hembras de 350 a 400g de peso.

Criterios de exclusión

- ✂ Se excluyeron ratones albinos hembras, ratones enfermos y con menos de 25 g de peso.
- ✂ Se excluyeron cobayos enfermos y con menos de 350 g de peso.

De los órganos aislados

Criterios de inclusión

- ✂ Se incluyeron fragmentos de íleon de cobayo de 2 cm de longitud.

Criterios de exclusión

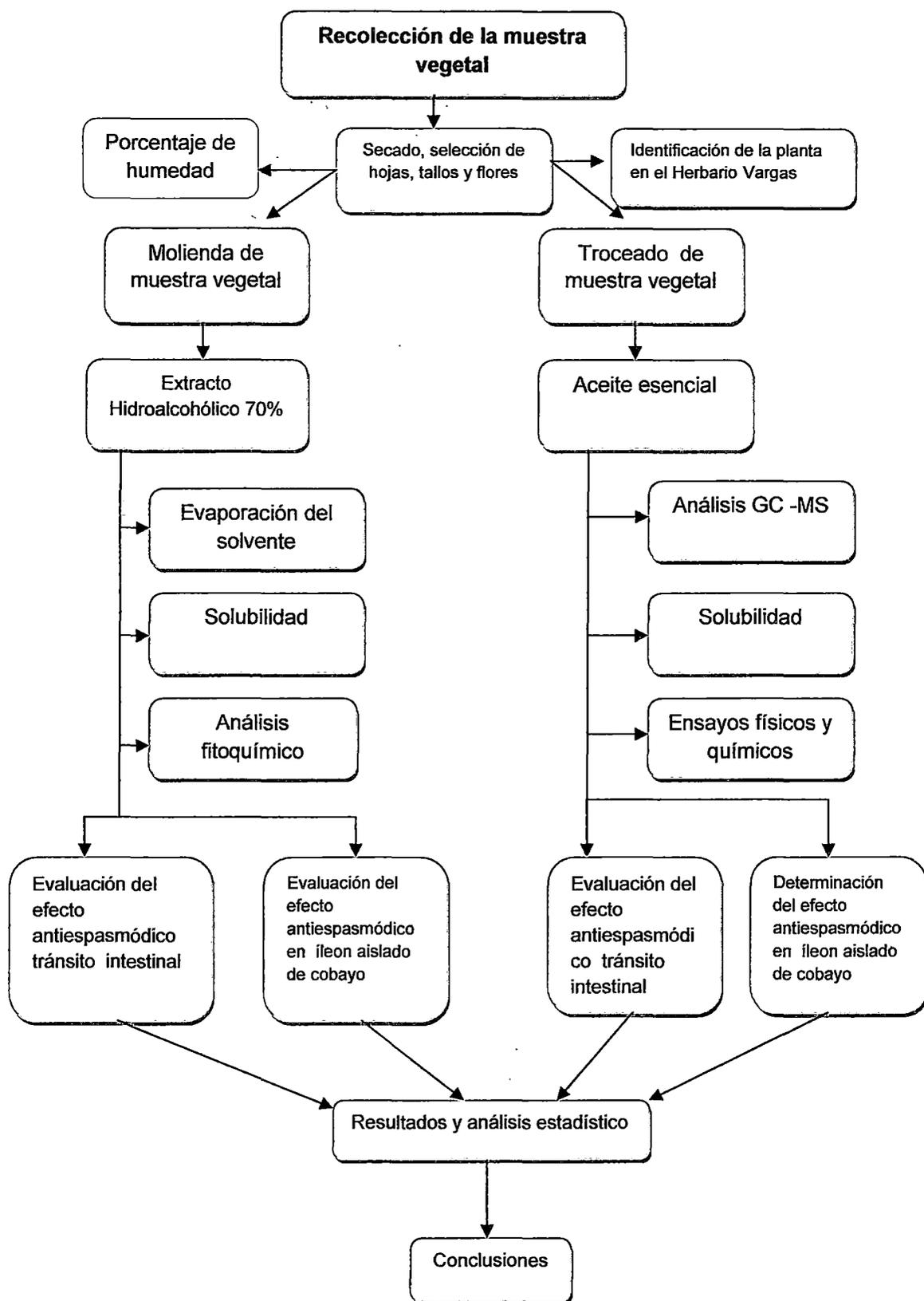
- ✂ Se excluyeron los 10cm de íleon de cobayo proximales a la unión ileocecal.

**CUADRO Nº 3.1
RESUMEN DE VARIABLES**

	INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL						
			NATURALEZA	ESCALA	FORMA DE MEDICION	INSTRUMENTO DE MEDICION	INDICADOR		
VARIABLES	INDEPENDIENTES	Extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L. "Ajenjo"	Sustancia resultante de la evaporación total del macerado de la planta <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo) con etanol al 70% con posible actividad antiespasmódica de consistencia pastosa.	Cuantitativa	Razón	Directa	Balanza de sensibilidad 0.001g	-Dosis mg/ Kg -Concentración ug/mL.	
		Aceite Esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. "Ajenjo"	Líquido volátil, producto aromático que se encuentra en diversas partes de la planta <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo) caracterizadas por una composición compleja	Cuantitativa	Razón	Directa	Balanza de sensibilidad 0.001g	-Dosis mg/ Kg -Concentración ug/mL.	
	DEPENDIENTES	IN VIVO	Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L. en ratones albinos	Capacidad que tiene el extracto hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo) para disminuir o suprimir los espasmos o contracciones intestinales disminuyendo el tránsito intestinal.	Cuantitativa	Razón	Directa	Cinta métrica	Porcentaje de avance del marcador
			Efecto antiespasmódico del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. En ratones albinos	Capacidad que tiene el aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo) para disminuir o suprimir los espasmos o contracciones intestinales disminuyendo el tránsito intestinal.	Cuantitativa	Razón	Directa	Cinta métrica	Porcentaje de avance del marcador
		EX VIVO	Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% de <i>Artemisia absinthium</i> L. sobre las contracciones basales y frente a la inducción con acetilcolina en íleon aislado de cobayo	Capacidad del extracto hidroalcohólico de <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo) para producir una reducción o supresión de las contracciones basales y sobre las contracciones inducidas por acetilcolina del íleon aislado de cobayo.	Cuantitativa	Razón	Indirecta	Transductor isotónico fuerza-desplazamiento	-Porcentaje de inhibición de la amplitud de contracciones. -Amplitud máxima (mv)
			Efecto antiespasmódico del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. sobre las contracciones basales y frente a la inducción con acetilcolina en íleon aislado de cobayo	Capacidad del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo) para producir una reducción o supresión de las contracciones basales y sobre las contracciones inducidas por acetilcolina del íleon aislado de cobayo.	Cuantitativa	Razón	Indirecta	Transductor isotónico fuerza-desplazamiento	-Porcentaje de inhibición de la amplitud de contracciones. -Amplitud máxima (mv)

3.3 PROCEDIMIENTO

FLUJOGRAMA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



3.3.1 Preparación de la Planta

3.3.1.1 Recolección de la especie vegetal: La planta en estudio *Artemisia absinthium* L. fue recolectada en Mayumbamba, distrito de Huanquite - Paruro, departamento del Cusco a 3391 m.s.n.m.

3.3.1.2 Secado:

El material recolectado (hojas, flores y tallos sanos), se dejó secar bajo sombra a temperatura ambiente durante 45 días, en un lugar ventilado para su conservación.

3.3.1.3 Selección:

Se utilizaron las hojas, flores y tallos sanos que no sufrieron ataque de plagas de hongos, insectos y que no estaban marchitas o deterioradas.

3.3.1.4 Molienda y Conservación:

Una vez obtenida la muestra seca de *Artemisia absinthium* L. (ajeno) se procedió a la molienda en un molino de granos, obteniéndose una muestra triturada la cual fue almacenada en frascos de color ámbar herméticamente cerrados y debidamente rotulados.

3.3.2 Determinación del porcentaje humedad:

La determinación de la humedad se realizó por triplicado en placas petri en la estufa del laboratorio de Farmacia y Bioquímica a 40°C, para la determinación de la humedad se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100\%$$

Donde: %H = porcentaje de humedad

 M1 = Peso de muestra fresca

 M2 = peso de muestra seca (67)

3.3.3 Obtención del extracto Hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo):

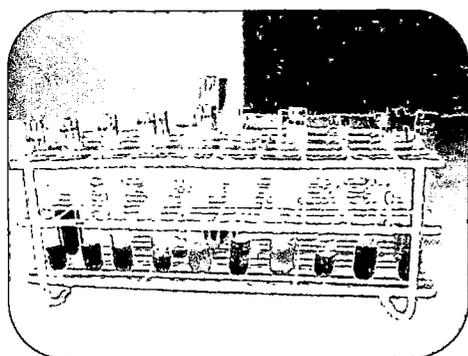
La planta de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) seco y molido, se sometió a un proceso de extracción de los metabolitos secundarios con etanol de 70° solvente hidroalcohólico. La droga entro en contacto con el solvente hidroalcohólico por ocho días (maceración) con constante agitación. Luego se filtro, concentro el extracto eliminándose por completo el solvente de extracción, obteniendo el extracto seco.

3.3.4 Pruebas de solubilidad.

El extracto obtenido se sometió a la prueba de solubilidad para lo que se utilizaron diferentes solventes desde los mas polares hasta los apolares para determinar la naturaleza disolutiva del extracto seco de *Artemisia absinthium* L. se utilizaron 0.5g de extracto para 2mL de solvente.

3.3.5 Análisis Fitoquímico Cualitativo:

Foto N° 1



Fuente: Achahui S.; Quispe P.

Se realizó el análisis fitoquímico cualitativo (foto N° 1) para la detección de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico, donde se realizó reacciones químicas específicas de caracterización. (Anexo 11)

3.3.6 Obtención de aceite esencial por arrastre con vapor

El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) se obtuvo por el método de arrastre con vapor de agua en el equipo de Hidrodestilación del laboratorio de Química Orgánica de la Carrera de Química de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Se colocó la muestra vegetal trozada y pesada (3.3kg) en el extractor de aluminio que consta del reservorio de agua, un trípode y una rejilla metálica

que evita que la planta esté en contacto directo con el agua, el extractor cerrado herméticamente fue sometido a una corriente de vapor de agua (Anexo N° 14).

El vapor generado arrastra consigo el aceite esencial del material vegetal hacia una trampa fría (codo de destilación con refrigerante) donde se condensa y desemboca en frascos de vidrio de color ámbar (Anexo N° 14).

Para la decantación se utilizó éter etílico y la desecación con sulfato de magnesio anhidro para eliminar trazas de agua y luego ser filtrado. El aceite se depositó en un balón y fue llevado al rotavapor a 40°C, se envasó en un frasco de vidrio de color ámbar dejándolo en la campana extractora para eliminar el éter. El aceite obtenido se almacenó en refrigeración para su posterior utilización. (Anexo N° 14)

3.3.6.1 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL

Para determinar el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) se utilizó la fórmula:

$$\%E = \frac{P_i - P_a}{P_i} \times 100\%$$

Donde:

%E: Porcentaje de extracción

P_i: Peso de muestra seca antes de la extracción

P_a: Peso del aceite esencial después de la extracción.

3.3.7 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL

3.3.7.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS:

A través de este análisis se confirmaron las características propias del aceite esencial en cuanto a su aspecto, olor y color.

Olor: El olor de los aceites esenciales es muy variado y constituye su rasgo más característico.

Color: Casi todos los aceites esenciales son incoloros en estado puro y fresco o pueden hacerse incoloros por redestilación. Por exposición al aire adquieren distintos colores.

Sabor: El sabor de los aceites esenciales es muy variado, algunos son dulces y otros tienen un sabor suave, punzante, caliente, acre acústico o quemante.

3.3.7.2 ENSAYOS FÍSICOS

3.3.7.2.1 ÍNDICE DE REFRACCIÓN:

Índice de refracción de una sustancia (n) es el cociente entre la velocidad de la luz en el aire y la velocidad de la luz en la sustancia. Es importante para la determinación de una sustancia y la detección de impurezas. La temperatura de lectura es de 20°C (± 2). Los refractómetros habituales determinan el ángulo límite. La parte esencial de estos instrumentos es el prisma de índice de refracción conocido que se pone en contacto con el líquido a examinar.

Se utilizó un refractómetro digital en el cual se llena con una gota de aceite esencial el prisma del índice de refracción y se lee después de cinco minutos luego del contacto.

3.3.7.2.2 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo):

El agua es mal solvente de los aceites sin embargo el alcohol, éter, cloroformo, ácido acético glacial, éter de petróleo y benceno disuelven los aceites volátiles.

Se utilizaron diferentes solventes desde los mas polares hasta los apolares para determinar la naturaleza disolutiva del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. Se realizó las pruebas de solubilidad en tubos de ensayo con 0.2mL de aceite esencial en 1mL de solvente.

3.3.7.3 ENSAYOS QUÍMICOS

3.3.7.3.1 ÍNDICE DE ACIDEZ:

Es la cantidad de KOH, expresada en miligramos, necesaria para la neutralización de los ácidos libres presentes en un gramo de aceite.

PROCEDIMIENTO: Pesamos en una fiola 0.887 g de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. agregamos 2.5mL de mezcla solvente Etanol: hexano (1:1) para luego titular con KOH 0.01N utilizando fenolftaleina al 1% como indicador. La aparición de un color rosado pálido indica el fin de la titulación (punto final).

Se calcula el Índice de Acidez de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{(A \times N \times 0.056)}{P} \times 100$$

Donde:

IA: índice de acidez

N: Normalidad del KOH

A: ml de KOH gastados en la titulación

0.056: p equivalente del KOH

P: Peso de la muestra de aceite

3.3.7.3.2 ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN:

Cantidad de KOH, en miligramos, necesaria para neutralización de ácidos libre y saponificación de los esteres en un gramo de sustancia.

Preparamos potasa alcohólica 0.5 M, para ello pesamos la cantidad necesaria de KOH y se disuelve con una mínima cantidad de agua, enrasándose con etanol hasta la cantidad precisa. Pesamos 0.892 g de aceite esencial en un balón y agregamos 20 mL de potasa alcohólica.

Preparamos de forma análoga otro balón pero sin muestra. Ambos balones ponemos a calentar a reflujo durante 20 minutos. Dejamos enfriar para valorar en contenido de ambos matraces.

Se procede a titular con una solución de ácido clorhídrico, y como indicador fenolftaleína. Tomando como volumen gastado la diferencia entre ambas pruebas se obtiene el número de equivalentes de potasa saponificados. (Anexo N° 15)

Se calcula el Índice de Saponificación de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$IS = \frac{56.1 \times N (V - V')}{m}$$

Donde:

N: Normalidad de la disolución del ácido clorhídrico utilizada

V: Volumen utilizado en ml de ácido clorhídrico en el ensayo en blanco

V': Volumen utilizado en mL de ácido clorhídrico en el ensayo de la muestra

3.3.7.3.3 ÍNDICE DE ÉSTER: Se calcula por diferencia entre los índices anteriores definidos.

3.3.8 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE GASES:

La cromatografía de gases (GC) es una técnica de separación basada en la diferente distribución de las sustancias entre dos fases no miscibles, en la que la fase móvil es un gas portador que atraviesa la fase estacionaria contenida en una columna. Es aplicable a sustancias o sus derivados que se volatilizan a las temperaturas empleadas. La cromatografía de gases se basa en fenómenos de adsorción, distribución de masas o exclusión por tamaños. (68)

EQUIPO: Consiste en una cámara de inyección, una columna cromatográfica contenida en un horno, un detector y un sistema de

adquisición de datos. El gas portador circula por la columna con un caudal o presión controlada y pasa seguidamente a través del detector. La cromatografía se realiza a temperatura constante o utilizando un programa de temperaturas dado. (68)

PROCEDIMIENTO

El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. fue analizado por un Cromatógrafo de interfaces Agilent 6890N equipado con una columna HP-5MS 5% phenyl methyl siloxane, (30m x 250um x 0.25um). La fase móvil fue helio con un flujo de 1.1mL/min. La temperatura del inyector fue de 250 C°, y de la columna fue programada con una variación de 60 C° hasta 130 C° a 12 °C/min durante 5 minutos; finalmente se llegó a la temperatura de 265 C° a 3°C por minuto. (Anexo N° 16)

El volumen inyectado fue 1 µL de una solución de aceite en metanol (10 µL/10mL). Las condiciones del GC y FID fueron las mismas excepto que se utilizó hidrógeno como fase móvil.

El análisis cualitativo se basó en una comparación del tiempo de retención, y espectro de masas con la información en las librerías de espectro de masas del software (NIST y Flavor)

3.3.9 ESTUDIO FARMACOLÓGICO

3.3.9.1 Determinación del Efecto Antiespasmódico por Medición del Tránsito Intestinal

Marcador carbón activado. Es una técnica usada para estudiar el efecto de fármacos sobre la motilidad del intestino. La administración de carbón activado usualmente en suspensión con goma tragacanto, con agar, pectina, goma acacia u otros agentes espesantes o aglutinantes, permite realizar el seguimiento del avance del marcador en el tránsito GI. La disminución del grado de avance, comparativamente con animales sin fármaco administrado, indica una

disminución en la motilidad intestinal, una reducción en el movimiento propulsivo del intestino. (69) (70) (71).

PROCEDIMIENTO:

Se dejaron en ayuno los ratones machos 24 h antes del experimento, permitiéndoles libre acceso al agua.

Se formaron grupos de 6 animales, los cuales fueron pesados para hallar sus respectivas dosis, se preparo una solución de extracto en solución fisiológica y aceite esencial en solución de tween 1%, por regla de tres simple se halló los mililitros correspondientes a la dosis de cada animal de experimentación teniendo en cuenta que el volumen máximo de administración fue de 0.5mL.

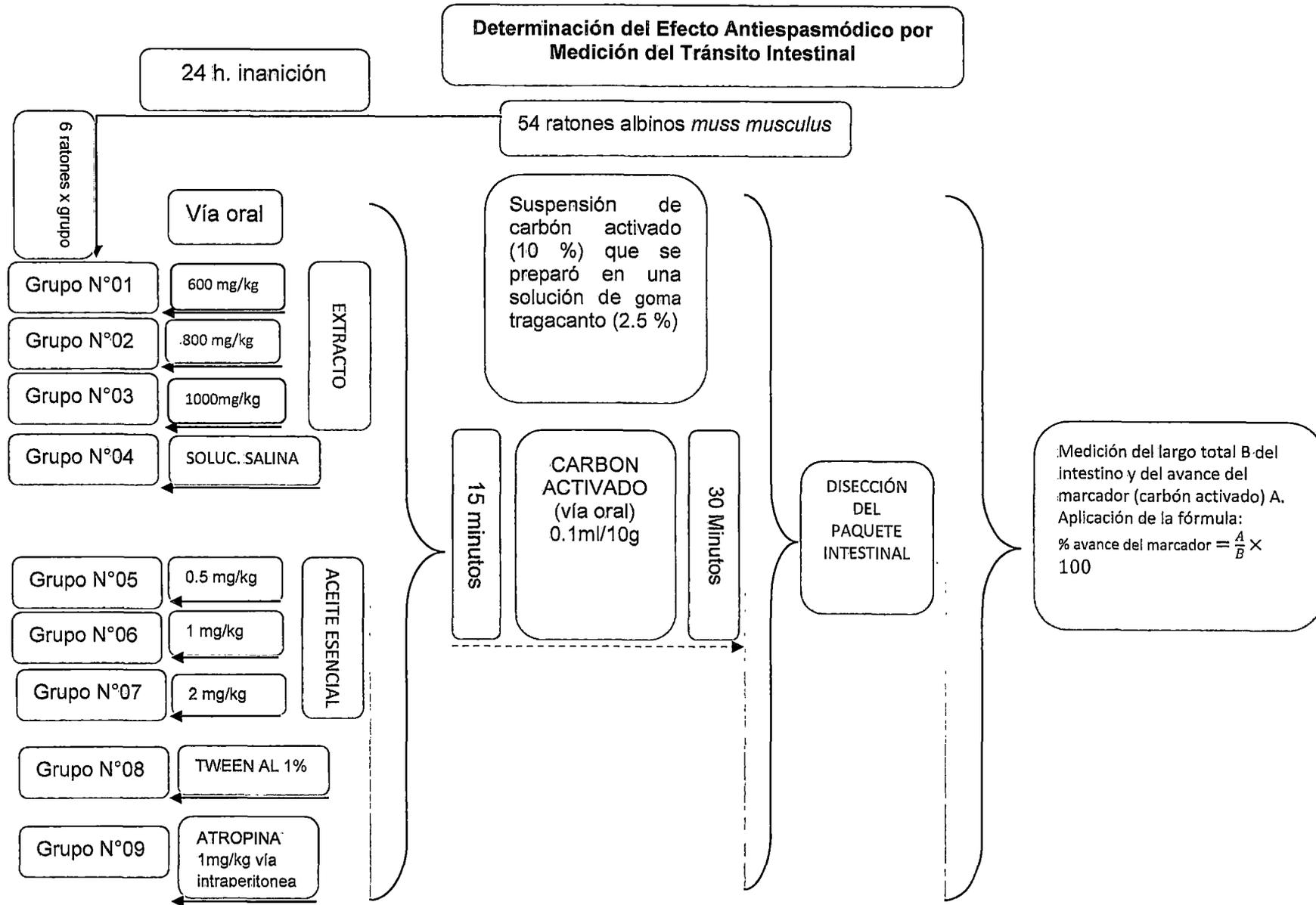
Se formaron dos grupos control: para el extracto con solución fisiológica y el aceite con solución de tween 1%.

Se tomó un solo grupo patrón para ambas pruebas, la administración del fármaco patrón (Atropina) se realizó por vía intraperitoneal. Transcurridos 15 min se administró a cada animal por vía oral 0.1mL/10g de la suspensión de carbón activado (10 %) que se preparó en una solución de goma tragacanto (2.5 %).

Las dosis del extracto hidroalcohólico y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" se suministró por vía oral por sonda nasogástrica.

Después de 30 min se sacrificaron a los animales de experimentación por una dislocación cervical, y se extrajo todo el intestino con mucho cuidado (Anexo N° 17).

Se realizo pruebas pilotos para llegar a definir las dosis utilizadas, los resultados se muestran en el anexo N° 31.



3.3.9.2 Determinación del Efecto Antiespasmódico en Íleon Aislado de Cobayo

Íleon aislado de cobayo (IAC): Es una herramienta útil para revelar las propiedades agonistas o antagonistas de fármacos. IAC es una preparación que se considera de mayor utilidad para detectar actividades colinérgicas o espasmogénicas, muestra contracciones rítmicas espontáneas y permite seguir el desarrollo de las pruebas para actividad espasmolítica directamente, incluso sin el uso de un agonista (72).

Está bien establecido que los movimientos espontáneos del intestino son regulados por depolarización y repolarización periódicas. En la depolarización el potencial de acción se presenta con un rápido influjo de calcio, vía canales de calcio operados por voltaje, el cual cuenta para restablecer el tono y las respuestas contráctiles. La musculatura lisa es relajada por inhibidores de la entrada de calcio, tal relajación ha sido mostrada por músculos bronquiales, gastrointestinales y uterinos (73).

PROCEDIMIENTO:

Se utilizó el equipo de baño de órgano aislado de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Santa María de Arequipa. Donde se utilizaron cobayos machos y hembras con un peso comprendido entre 300 a 400g. Que fueron privados de alimento 24 h previos a su sacrificio.

Se sacrificaron por sección del paquete vículo-nervioso del cuello y la columna vertebral. Se accedió a la masa intestinal por disección de la piel y de la musculatura de la pared anterior del abdomen. Se identificó el íleon y se extrajo un segmento de longitud aproximada de 30 cm, despreciándose los 10cm más distales (unión ileocecal) por poseer una gran cantidad de receptores alfa adrenérgicos excitadores.

La porción de íleon así obtenida se conservó en un vaso de precipitado que contenía solución de Ringer a 37°C de temperatura. Se tomaron cortes de 2cm de longitud, procediéndose a la eliminación del tejido superfluo y limpieza intraluminal. (Anexo N° 22). A continuación se colocaron los dos puntos opuestos de sujeción del segmento de íleon donde uno se fijó en la varilla y el otro se acopla a un transductor isométrico a través de un hilo metálico. (74)

Para el montaje de la preparación se utilizó un baño de órganos con una copa de capacidad para 25mL que se llenó de solución Ringer y se burbujeo con un aireador y se mantuvo en la temperatura constante de 37°C con la ayuda de un termostato (75) (Anexo N° 22). Se debe tener en cuenta ciertos parámetros de Chart 5.5, antes de empezar las lecturas, primero se elige en el menú de programación un solo canal de lectura, la velocidad de muestreo de 4/s, luego se elige la amplitud, en escala vertical bipolar a una escala horizontal de 1:1.

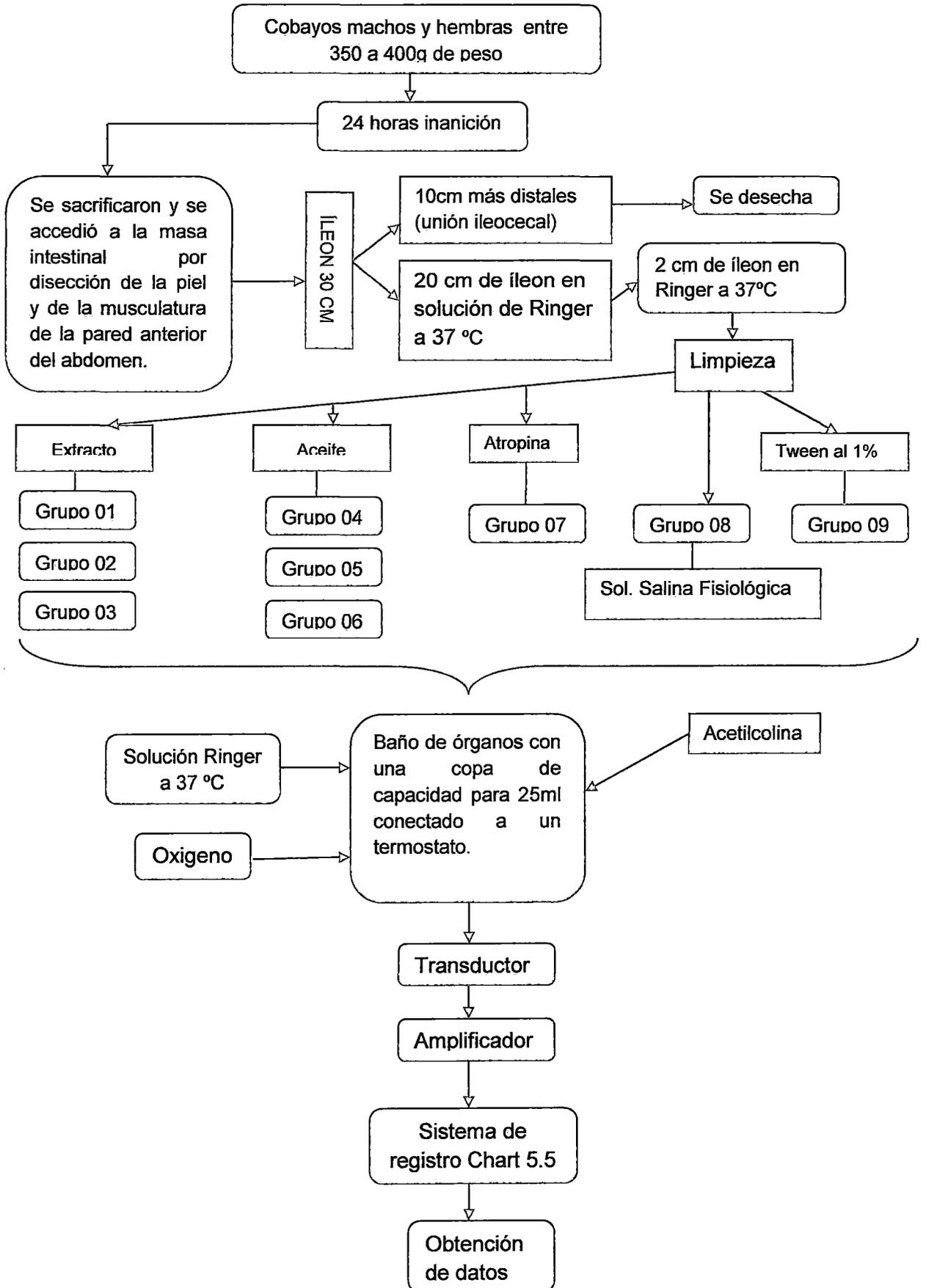
La preparación se dejó estabilizar por 15 minutos (Anexo 19) una vez conseguida una línea basal estable, se añadió al baño las sustancias que provocan la contracción o relajación de la musculatura lisa. Al contraerse el íleon tira del transductor con una fuerza que se transforma en una señal eléctrica. Después es ampliada por el amplificador y podremos observar en la pantalla del ordenador una subida o bajada de la línea basal. (74)

Se buscó la respuesta contráctil máxima del íleon en presencia de acetilcolina, hasta lograr una contracción de igual magnitud con 2 dosis consecutivas; de éstas se tomo la menor dosis, lo que se considera la respuesta máxima contráctil del órgano (contracción de máxima amplitud y 100 % de respuesta). Sobre la base de este valor se calcularon los valores relativos en porcentajes de inhibición de la amplitud de las contracciones del musculo liso del intestino por acetilcolina y en presencia del extracto seco hidroalcohólico y del aceite esencial de *Artemisia Absinthium* L. "Ajenjo" y del fármaco patrón Atropina.

Los registros se efectuaron siempre en el orden siguiente: basal; dosis de la droga; dosis de acetilcolina (contracción máxima amplitud).

Se realizaron para cada concentración evaluada tres lecturas cada una con un segmento de íleon diferente; para el extracto hidroalcohólico 70% las lecturas se muestran en los anexos N°25, N°26, y N°27. y para el aceite esencial se muestran en los anexos N°28, N°29, y N°30. Las lecturas del fármaco patrón se muestran en el anexo N°24. Del promedio de las tres lecturas se calcularon el porcentaje de inhibición.

Determinación del Efecto Antiespasmódico en Íleon Aislado de Cobayo



3.3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), seguida por la prueba de Duncan.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Los resultados de este estudio son analizados mediante el ANÁLISIS DE VARIANZA, técnica estadística ampliamente utilizada en el área de la salud, que permiten realizar un estudio comparativo, es el análisis de varianza (ANOVA).

Esta técnica tiene como objetivo determinar los factores que influyen en la variable respuesta.

Para este fin se plantean las siguientes hipótesis estadísticas:

$$H_0: U_1 = U_2 = \dots = U_T$$

$$H_A: U_i \neq U_j; \text{ para } i \neq j$$

Equivalente

H_0 : no influye en el factor de respuesta.

H_A : influye en el factor de respuesta.

En el ANOVA el p – valor, juega un papel muy importante en la decisión de las hipótesis. Si p – valor es < 0.05 se acepta la hipótesis alterna con un nivel de confianza del 95%, en este caso influye el factor; en caso que $p > 0.05$, la decisión es aceptar la hipótesis nula, no influye el factor.

PRUEBA DE RANGO MÚLTIPLE DUNCAN

La prueba de rango múltiple Duncan es una comparación de las medias de tratamiento de todos contra todos de manera que cualquier diferencia existente entre cualquier tratamiento contra otro se vera reflejado en este análisis. Utiliza un nivel de significancia variable que depende del número de medias que entran en cada etapa de comparación. La idea es que a medida que el número de media aumenta, la probabilidad de que se asemejen disminuye.

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 ENSAYOS PRELIMINARES

4.1.1 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

CUADRO N° 4.1

PORCENTAJE DE HUMEDAD de las partes aéreas de <i>Artemisia absinthium</i> L. (ajenjo)			
	Peso I	Peso II	Peso III
Peso de muestra fresca	5g	5g	5g
Peso de muestra seca	1.47g	1.35g	1.4g
Porcentaje de humedad (%H)	70.6	73	72
Promedio de %H	71.87		

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

En el cuadro 4.1 se observa el porcentaje de humedad de las partes aéreas de *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) que es 71.87 %, este resultado es muy cercano al reportado por Ibarra y Tunqui 73.88% de la misma especie vegetal (14). Comparando el porcentaje de humedad de nuestra planta con otras especies vegetales como *Satureja boliviana* (muña) con un porcentaje de humedad de 57.56% (68); *Vallea stipularis* (chuillur) 47.4%(76); *Lepidium chichicara Desvaux* (chichira) 82.78% (77).

Se entiende por "humedad" el agua libre que contiene el material vegetal; las plantas contienen diversos tipos de enzimas como hidrolasas, oxidasas, polimerasas, etc., que van a dar lugar a diferentes reacciones enzimáticas tras la recolección de la planta fresca o en la droga insuficientemente deshidratada, provocando con ello consecuencias perjudiciales tanto para el aspecto y características organolépticas como para el contenido de principios activos y las consiguientes propiedades terapéuticas de las mismas, además de favorecer el desarrollo de microorganismos y la fermentación durante la conservación. Es muy importante conocer la proporción de agua que contiene el material vegetal, ya que muchas veces los resultados de los análisis realizados sobre el contenido de una planta vienen expresados en relación al de la droga seca (57). El porcentaje de

humedad de *Artemisia absinthium* L. es alto lo que manifiesta que el proceso de secado es un tanto dificultoso.

4.1.2 RESULTADO DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. (AJENJO)

CUADRO N° 4.2

SOLVENTE	SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE <i>Artemisia absinthium</i> L.	SOLUBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Artemisia absinthium</i> L.
Éter etílico	+	+++
Hexano	-	+++
Bencina	-	+++
Cloroformo	-	+++
Acetona	-	+++
Acetato de etilo	-	++
Etanol 96°	+++	+
Etanol 70°	+++	-
Etanol 40°	+++	-
Agua	+++	-

Fuente: Datos experimentales

Interpretación:

Signos	Significado
+++	Muy soluble
++	Soluble
+	Poco soluble
-	Insoluble

Análisis y discusión

El cuadro N°4.2 muestra los resultados de las pruebas de solubilidad del extracto etanólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

frente a diferentes solventes de polaridad creciente. Las cuales evidencian que el extracto hidroalcohólico al 70% es muy soluble en solventes polares (etanol 96°,70°,40° y agua) e insoluble en solventes apolares (hexano, bencina, cloroformo, acetona y acetato de etilo), sin embargo es poco soluble en éter, a una relación de 0.5g de extracto en 2 mL de solvente. El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" es muy soluble en solventes apolares como éter etílico, hexano, bencina y cloroformo, es soluble en acetato de etilo y poco soluble en etanol 96°. Siendo insoluble en solventes polares como etanol 70 °, etanol 40 ° y agua. (A una relación de aceite esencial: solvente de 0.2mL: 1mL) a temperatura ambiente (15 °C).

4.1.3 RESULTADO DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L (Ajenjo)

CUADRO N° 4.3

	RENDIMIENTO (p/p) %	ESTADO DE LA PLANTA
<i>A. absinthium</i> L.	0.24	Seca

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

En el cuadro 4.3 se observa el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L obtenida por el método de hidrodestilación de las partes aéreas de la planta que es de 0.24%. Se utilizó 3.3Kg de las partes aéreas de la planta seca, obteniéndose 7.794g de aceite esencial.

De acuerdo a la farmacopea europea la droga cruda de ajenjo (*Artemisia absinthium* L.) de las hojas, las partes floridas o una mezcla de éstas; debe contener no menos de 2mL/Kg (~ 0.2 %) de aceite esencial calculado referente a la droga seca. (41). *Artemisia absinthium* L. en diferentes países de Europa mostró porcentajes de rendimiento que van desde 0.1 hasta 1.6 como se muestra en el (Anexo N° 13)

Comparando con otras especies tenemos: *Origanum* sp "oregano" 0.2% (planta fresca); *Satureja boliviana* "muña" 0.42% (planta oreada), *Schinus molle* "molle" 0.72% (planta oreada), *Eucaliptus globulus* "eucalipto" 0.88% (planta seca), *Rosmarinus officinales* "romero" 0.88% (planta seca), *Luma*

chequen "arrayan" 1.25% (planta fresca) (68). Las especies antes citadas son catalogadas como de buen rendimiento, entonces el porcentaje de rendimiento de *Artemisia absinthium* L. es considerado como apreciable.

4.1.4 RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo)

CUADRO N° 4.5

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo)	
ASPECTO	Líquido oleoso, translúcido y límpido
COLOR	Verde
OLOR	Característico
SABOR	Amargo

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N°4.6

RESULTADOS DEL ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Artemisia absinthium</i> L. (Ajenjo)		
ANÁLISIS	RESULTADO	TEMPERATURA °C
DENSIDAD	0.866 mg/mL	18°C
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.468	19°C
ÍNDICE DE ACIDEZ	0.1768	
ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN	0.0629	
ÍNDICE DE ESTER	0.1139	

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

En el cuadro N° 4.5 muestra la densidad del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) a 18 °C que es de 0.866mg/mL. Su índice de refracción a una temperatura de 19°C es de 1.468. Así como también el índice de acidez, índice de saponificación, índice de éster con sus respectivos valores.

El índice de acidez de aceites esenciales de otras especies vegetales tales como: el aceite desterpenado de *Laurus nobilis* L. "laurel" con un índice de acidez hasta 4, *Elettaria cardamomum* "cadarmomo" índice de acidez de 1.1, el aceite esencial de *Zingiber officin* "jengibre" hasta 2, de *Myristica fragrans* "nuez moscada" de 1.0 – 1.3, de *Piper nigrum* "pimienta" hasta 1.1, el aceite esencial de las semillas y de la hierba de *Petroselinum crispum* (Miller) A. W. Hill "perejil" hasta 6, y 1 respectivamente(82), son mucho más elevados que el índice de acidez del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (0.1768) que fue evaluada en esta investigación. Considerando que el índice de acidez es el cálculo de los ácidos grasos libres presentes en el aceite, es recomendable que el índice de acidez de un aceite sea bajo. El índice de saponificación del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) que es de 0.0629, frente al índice de saponificación del aceite esencial de las semillas de *Apium graveolens* L. "apio" de 25.1- 47.6 vemos que es mucho más bajo. El índice de éster del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) 0.1139. En comparación a los índices de éster de aceites esenciales de otras especies como el aceite desterpenado de *Laurus nobilis* L. "laurel" con un índice de éster 150, *Elettaria cardamomum* "cadarmomo" índice de éster de 12, el aceite esencial de *Zingiber officin* "jengibre" hasta 15, de *Myristica fragrans* "nuez moscada" de 6.8 – 7.3, de *Piper nigrum* "pimienta" de 0.5 – 6.5, el aceite esencial de *Petroselinum crispum* (Miller) A. W. Hill "perejil" extraído de las semillas de 1 – 11, y extraído de la hierba 5-14 (82), observamos que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. tiene un índice de éster bajo.

Con estos resultados podemos evaluar la calidad de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L "ajenjo" valores bajos del índice de acidez, índice de saponificación e índice de éster nos indica una buena calidad del aceite esencial.

4.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO

4.2.1 RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L.

CUADRO N° 4.6

Metabolito Secundario	Reactivo	Cantidad de metabolito secundario presente en el extracto hidroalcohólico
Alcaloides	Dragendorf	+++
Azucares reductores	Benedict	+
	Felhing	+
Glicósidos	HCl + Benedict	+++
Aminoácidos	Ninhidrina	-
Flavonoides	Mg + HCl(c)	-
Compuestos fenólicos	Sol. (flavonoides)+FeCl ₃ 1%	-
Quinonas	H ₂ SO ₄ (c)	-
Resinas	Acetato de cobre	++
Taninos	FeCl ₃ 1%	+++
Saponinas	Indice afrocimétrico	++
Lactonas	Bajlet	++

Fuente: Datos experimentales

Interpretación:

Signos	Significado
+++	Abundante cantidad
++	Regular cantidad
+	Poca cantidad
-	No detectable

Análisis y discusión

En el cuadro N° 4.6 se observa el análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico 70% de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo), muestra la presencia de alcaloides, glicósidos y taninos en abundante cantidad.

También se encontró la presencia de resinas, saponinas y lactonas en regular cantidad. Los azúcares reductores se encontraron en poca cantidad. No encontrándose la presencia de aminoácidos, flavonoides, compuestos fenólicos y quinonas.

Por bibliografía *Artemisia absinthium* L. presenta constituyentes amargos de estructura de las sesquiterpenlactonas como la absintina (max 0.28% en la droga), anasintina, artabisina (0.04 a 0.16% in la droga fresca) y matricina (0.007% en la droga) (79) (78). Otros constituyentes: Flavonoides (como la quercitina y rutina), ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido siringico, ácido salicílico, ácido vanílico, carotenoides, cumarinas, peróxido homoditerpeno, tiofeno y taninos (5) (79) (78) (80) (81)

El tiempo de recolección es importante para la calidad y la composición de los constituyentes. El metabolismo cambia en el periodo del florecimiento y durante la maduración del fruto, por ejemplo durante el periodo de florecimiento incrementa la concentración de los principios amargos (78).

Los alcaloides por su gran variedad de efectos que presentan pueden ser estimuladores (cafeína, estricnina), depresores (morfina) o incluso alucinógenos (psilocina, harmalina) del sistema nervioso central, estimulantes de simpático (efedrina) o bloqueantes (yohimbina) y estimulantes del parasimpático (pilocarpina, eserina) o bloqueantes (atropina). Los glicósidos conocidos por su actividad carditónica (digitoxina, digitalina) formado por dos porciones la genina que encierra la actividad farmacológica mientras que el azúcar inactivo de por si rige la permeabilidad celular. Los taninos conocidos por sus propiedades astringentes por lo que son utilizados como cicatrizantes en uso externo y en uso interno como antidiarreicos y además de disminuir el peristaltismo tienen acción antiséptica (57).

Según diversos estudios de investigación indican que: La acción antiespasmódica fue atribuida a la presencia de flavonoides en la composición de *Psidium guajava* L. "guayaba" específicamente a la quercetina (33). Sin embargo en el preparado acuoso y el extracto etanólico de *Cydonia oblonga* Miller "membrillo", según antecedentes de la misma

publicación atribuían la acción antiespasmódica a la presencia de flavonoides como la rutina y la quercetina, pero al realizar el análisis por HPLC del preparado acuoso y el extracto metanólico, frente a quercetina y rutina, no reveló la presencia de ninguno de estos flavonoides, lo que sugiere que el efecto farmacológico encontrado no se debe a estos compuestos. (25). La acción antiespasmódica de *Punica granatum* "granada", se debe a diversos compuestos activos que contiene, principalmente taninos; la elevada concentración de galotaninos y ellagitaninos como la punicalina y punicalagina (mayor a 28%) explica su acción antiespasmódica directa (58) (59).

A los alcaloides y taninos presentes en el extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. "ajenjo" se le puede atribuir la actividad antiespasmódica.

4.2.2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE GASES Y ESPECTROSCOPIA DE MASAS (GC-MS) DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

CUADRO N° 4.7

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Artemisia absinthium</i> L. (AJENJO)			
TR	Área (%)	Compuesto	Coincidencia
3.745	0.13	3-thujene (α -tujene)	83
4.193	1.23	Sabineno	94
4.332	0.11	β -Mirceno	74
4.882	0.57	Ocimene	83
5.639	0.59	1.6- octadiene, 5,7 -dimethyl (Isocitronellene)	52
5.673	0.45	Linalol	72
5.838	14.32	3-thujanone (β -tuyona)	94
5.977	26.57	α -Tuyona	93
6.079	29.69	Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3 methoxymethylene	53
6.168	0.53	Isothujol	86
8.646	22.18	Myrtenyl acetate	59
Total	96.37		

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

En el cuadro N° 4.7 se observa los resultados del análisis de GC-MS del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. en el que 12 componentes volátiles fueron identificados como mayoritarios por comparación de espectros de masa con los datos de una librería (NIST05) dando el 96.37 % del total del aceite esencial. Entre los componentes mayoritarios tenemos β -tuyona (14.32%), α -tuyona (26.57%), Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3-methoxymethylene (29.69%) y Myrtenyl acetate (22.18%). Cabe resaltar que el porcentaje de coincidencia de la β -tuyona y α -tuyona con los espectros de masas de la librería (NIST05) son elevados dándonos una certeza de que se tratan de estos compuestos (94 y 93 % respectivamente). Sin embargo; los otros dos componentes mayoritarios cuyos porcentajes de coincidencia con los espectros de masas de la librería (NIST05) son relativamente bajos (pero más del 50 % de coincidencia), se tomaron en cuenta porque el porcentaje de estos compuestos respecto al total del aceite esencial son elevados.

El anexo N° 8 nos muestra la composición del aceite esencial de diferentes países, especialmente muestras de países europeos ya que es una planta muy conocida en el viejo mundo. Comparando la composición de nuestro aceite con las demás muestras, hay diferencias tanto en la proporción como en el tipo de metabolitos.

El aceite esencial de Teurel reportado por Llorens M. et al (11) tiene como componente mayoritario Acetato de crisantenilo (58.13%), y la presencia de sabineno, β -mirceno y β -tuyona en proporciones menores al aceite esencial analizado en Cusco; el linalol esta presente en menor cantidad que la que posee nuestra muestra.

En cuanto a la composición química del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. de Erzurum, cuyo principal componente fue el chamazuleno (17.8%), tiene sólo un componente en común con nuestra muestra de aceite que es sabineno y en mayor proporción (21). Los componentes más dominantes del aceite esencial de Grecia (2007) fueron oxido de cariofileno (25.3%), *p*-cineno (16.8%) y el acetato de lanceol (7.3%). No encontrándose estos componentes en nuestra muestra. (12)

Comparando la composición química de nuestro aceite esencial con las muestras de distintos países de Europa podemos decir que tienen tres componentes en común, pero en distintas proporciones. El sabineno (1.23%) con mayor cantidad en las muestras de Europa que en la nuestra; sin embargo en mayor cantidad que la tercera muestra de Francia (0.8 %), España (trazas) y Siberia (0.4 %). El β -Mirceno (0.11 %), las muestras de Europa contienen mayor proporción de este componente que en nuestro aceite; pero no en el aceite de España (0.1%). La β -tuyona (14.32%) nuestro aceite tiene mayor proporción que las muestras de Europa, sin embargo; menor proporción que la cuarta muestra del aceite esencial de Estonia (64.6%), la tercera muestra de Italia (40.6%) y Grecia (38.7%). (13)

Los cromatogramas correspondiente a cada compuesto identificado en el aceite esencial de ajeno se adjuntan en el anexo N° 07

4.3 RESULTADOS DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO IN VIVO

4.3.1 RESULTADOS DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Artemisia absinthium* L POR EL MÉTODO DE TRÁNSITO INTESTINAL EN RATONES ALBINOS

CUADRO N° 4.8

Grupo N° 1: Control: Solución fisiológica			
N° de animal de Experimentación	A (cm)	B(cm)	C (%)
1	64,5	56	86,82
2	65	56	86,15
3	63	52	82,54
4	60,5	49	80,99
5	61	53,5	87,71
6	56	47	83,93
Grupo N° 2: Dosis: 600mg/Kg			
1	66,5	36	54,14
2	70,5	15	21,28
3	71	34	47,89
4	72,5	25,5	35,17
5	68,5	27	39,42
6	64	22,5	35,16
Grupo N° 3: Dosis: 800mg/Kg			
1	65	34,5	53,08
2	71,5	27	37,76
3	65	35,5	54,62
4	67	32,5	48,51
5	61	29	47,54
6	75,5	34,5	45,69
Grupo N° 4: Dosis: 1000mg/Kg			
1	62,5	28,5	45,60
2	68	34,5	50,74
3	67	35,5	52,99
4	71	29	40,85
5	70	39	55,71
6	72	22	30,56
Grupo N° 5: Atropina 1mg/Kg			
1	69	15.5	22.46
2	67.5	10.5	15.56
3	67	14.5	21.64
4	76	19	25.00
5	77	9	11.69
6	68	16	23.59
Donde: A: Distancia total del intestino (cm), B: Distancia recorrida del marcador (carbón activado) (cm), C: Porcentaje de avance del marcador (B/A)x100			

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N° 4.9

CUADRO DE LAS MEDIAS, DESVIACION TÍPICA, MÍNIMOS Y MÁXIMOS DEL PORCENTAJE DE AVANCE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L.

GRUPOS	N° de Ensayos	Media (% de avance)	Desviación típica	Mínimo	Máximo
PATRÓN	6	19.9	5.2	11.7	25.0
CONTROL	6	84.7	2.6	80.9	87.7
600 mg/kg	6	38.8	11.4	21.3	54.1
800 mg/kg	6	47.9	6.0	37.8	54.6
1000 mg/kg	6	46.1	9.3	30.6	55.7

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.10

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE AVANCE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L.

ANOVA

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	13305.832	4	3326.458	58.068	0.000
Intra-grupos	1432.131	25	57.285		
Otal	14737.963	29			

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.11

PRUEBA DE DUNCAN DEL PORCENTAJE DE AVANCE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L.

Duncan				
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
PATRÓN	6	19.9		
600 mg/kg	6		38.8	
1000 mg/kg	6		46.1	
800 mg/kg	6		47.9	
CONTROL	6			84.7
Sig.		1.0	0.1	1.0

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

El cuadro N° 4.8 se observan los resultados de la experimentación In Vivo de la determinación del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. donde están los valores del largo total del intestino de cada ratón así como las distancias recorridas por el carbón activado a través del intestino y sus respectivos porcentajes de avance del marcador. Se observa que el grupo control (solución fisiológica) tienen porcentajes de avance por encima del 80%, el extracto hidroalcohólico a la dosis de: 600mg/Kg tiene porcentajes de avance de 21.28 a 54.14%, 800mg/Kg de 37.76 a 54.62% y 1000mg/Kg de 30.56 a 55.71%, las tres dosis disminuyeron el tránsito intestinal comparados con el grupo control, por esta diferencia en el porcentaje de avance se atribuye que el extracto hidroalcohólico presenta efecto antiespasmódico en las tres dosis evaluadas. La atropina que fue utilizado como fármaco patrón presentó porcentajes de avance de 11.69 a 23.59%.

Los valores del porcentaje de avance del marcador dentro de un mismo grupo experimental no son tan próximos debido a las características anatómicas, fisiológicas intrínsecas de cada animal de experimentación, diferencias que también se presentaron en estudios previos con el mismo modelo de experimentación.

En el cuadro N°4.9 se muestran las medias, la desviación típica y los valores máximos y mínimos de cada grupo experimental donde se observa que el grupo control (solución fisiológica) presenta los mayores porcentajes de avance del marcador que van desde 80.99 hasta 87.71 frente al efecto del extracto hidroalcohólico al 70% a las dosis de 600, 800, 1000 mg/Kg y el fármaco patrón (atropina) con medias de 38.8%, 47.9%, 46.1% y 19.9% respectivamente.

En el cuadro N° 4.10 apreciamos el resultado del Análisis de Varianza, donde según la prueba del ANOVA, existen diferencias significativas entre los grupos experimentales, con un nivel de significancia igual a 0.000; indicando que el extracto Hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L.

“Ajenjo” por medición del tránsito intestinal en ratones albinos presenta efecto antiespasmódico.

Según el análisis de Duncan (Cuadro N° 4.11), se tiene el resultado del porcentaje de avance ordenado de manera jerárquica, es decir de acuerdo al efecto antiespasmódico que puedan tener, donde se observa como primer grupo, al patrón (atropina) seguido por los grupos de Extracto Hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. “Ajenjo” agrupados en un mismo grupo y finalmente al grupo control (solución fisiológica). El promedio del porcentaje de avance que presentaron los grupos experimentales (600mg/kg, 800 mg/kg y 1000 mg/kg) iguales entre sí, son diferentes estadísticamente al grupo control y al grupo patrón.

El extracto hidroalcohólico al 70 % de *Artemisia absinthium* L. (ajenjo) disminuyó significativamente el porcentaje de avance del marcador (carbón activado) frente al grupo control. El efecto mostrado de igual manera con la administración de la atropina que tiene acción antiespasmódica establecida, da fortaleza al resultado encontrado.

Existen diversos estudios, donde se utilizaron la atropina como fármaco patrón a diferentes dosis. Toso R. et al; utilizaron la atropina a la dosis de 1mg/Kg (30). Gracia M. et al, a las dosis de 0.5mg, 1mg, 1.5mg /Kg con porcentajes de avance del marcador de 49 ± 11.2 , 44.5 ± 10.2 y 38.9 ± 10.7 % respectivamente. Moron R. et al, a las dosis de 0.5mg, 1mg, 1.5mg/Kg con porcentajes de avance del marcador de 49.50 ± 10.21 , 44.50 ± 10.21 , y 38.90 ± 10.71 % respectivamente. (7)

El extracto metanólico de *Punica granatum* a la dosis de 300mg/Kg presentó un porcentaje de avance del marcador de $61.55 \pm 21.26\%$ (16), el extracto etanólico de *Cydonia oblonga* Miller a las dosis de 3, 30, 300 mg/Kg con porcentajes de avance del marcador de 75, 66, 58% respectivamente, el preparado acuoso de *Cydonia oblonga* Miller a las dosis de 3, 30, 300 mg/Kg con porcentajes de avance del marcador de 68, 65,54% respectivamente(25), la tintura de *Psidium guajava* L. a las dosis de 200, 400, 800mg/Kg con porcentajes de avance del marcador de 47.18 ± 13.01 , 32.75 ± 16.46 , $23.56 \pm 13.95\%$ respectivamente(33), el extracto de *Piper auritum* al

45% a las dosis de 500, 1000, 1500mg/Kg con porcentajes de avance del marcador de 43.7 ± 10.2 , 23.4 ± 14.6 , 15.5 ± 9.4 % respectivamente (7)

El extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. de esta investigación a las dosis de 600, 800, 1000mg/Kg con porcentajes de avance de marcador de 38.8 ± 11.4 , 47.9 ± 6.0 , 46.1 ± 9.3 % presenta mejor efecto que el extracto metanólico de *Punica granatum* (300mg/Kg), el extracto etanólico y el preparado acuoso de *Cydonia oblonga* Miller (3, 30, 300 mg/Kg). Pero no tiene mejor efecto que la tintura de *Psidium guajava* L. (200, 400, 800mg/Kg) y el extracto de *Piper auritum* al 45% (500, 1000, 1500mg/Kg).

4.3.2 RESULTADOS DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. POR EL MÉTODO DE TRÁNSITO INTESTINAL EN RATONES ALBINOS

CUADRO N° 4.12

DATOS OBTENIDOS POR EL MÉTODO DE TRÁNSITO INTESTINAL

Grupo N° 1: Control: Solución tween 1%			
N° de animal de Experimentación	A (cm)	B(cm)	C (%)
1	61	53	86,88
2	70	60	85,71
3	67,5	56	82,96
4	65	58	89,23
5	63	55,5	88,09
6	63	50,5	80,16
Grupo N° 3: Dosis: 0.5mg/Kg			
1	69,5	37,5	53,96
2	62	29,5	47,58
3	61,5	39	63,42
4	64,5	33	51,16
5	60	31	51,66
6	67,5	41,5	61,48
Grupo N° 4: Dosis: 1mg/Kg			
1	75	34,5	46,00
2	72	36	50,00
3	65	28,5	43,85
4	64	28	43,75
5	69	28	40,58
6	65,5	24	36,64
Grupo N° 5: Dosis: 2mg/Kg			
1	71	16	22,54
2	66	24	36,36
3	61	26	42,62
4	60	17	28,33
5	66,5	32,5	48,87
6	79	47,5	60,13
Grupo N° 5: Atropina 1mg/Kg			
1	69	15.5	22.46
2	67.5	10.5	15.55
3	67	14.5	21.64
4	76	19	25.00
5	77	9	11.69
6	68	16	23.53

Donde: **A:** Distancia total del intestino (cm), **B:** Distancia recorrida del marcador (carbón activado) (cm), **C:** Porcentaje de avance del marcador (B/A)x100

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N° 4.13

CUADRO DE LAS MEDIAS, DESVIACION TÍPICA, MÍNIMOS Y MÁXIMOS DEL PORCENTAJE DE AVANCE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

GRUPOS EXPERIMENTALES	N	Media (% de avance)	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Patrón	6	19.9	5.2	11.7	25.0
Solución de tween en 1%	6	85.5	3.4	80.2	89.2
0.5 mg/kg	6	54.9	6.2	47.6	63.4
1mg/kg	6	43.5	4.6	36.6	50.0
2 mg/kg	6	39.8	13.7	22.5	60.1

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.14

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE AVANCE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

ANOVA

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Infer-grupos	13945.367	4	3486.342	60.678	0.000
Intra-grupos	1436.408	25	57.456		
Total	15381.776	29			

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N°4.15

PRUEBA DE DUNCAN DEL PORCENTAJE DE AVANCE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

Duncan ^a					
CONCENTRACIONES DE ACEITE	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Patrón	6	20.0			
2 mg/kg	6		39.8		
1mg/kg	6		43.5		
0.5 mg/kg	6			54.9	
solución de tween en 1%	6				85.5
Sig.		1.000	.411	1.000	1.000

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

El cuadro N° 4.12 se observan los resultados de la experimentación In Vivo de la determinación del efecto antiespasmódico del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. donde están los valores del largo total del intestino de cada ratón así como las distancias recorridas por el carbón activado a través del intestino y sus respectivos porcentajes de avance del marcador. Se observa que el grupo control (solución tween 1%) tienen porcentajes de avance por encima del 80%, el extracto hidroalcohólico a la dosis de: 0.5mg/Kg tiene porcentajes de avance de 47.58 a 63.42%, 1mg/Kg de 36.64 a 50.00% y 2mg/Kg de 22.54 a 60.13%, las tres dosis disminuyeron el tránsito intestinal comparados con el grupo control, por esta diferencia en el porcentaje de avance se atribuye que el aceite esencial presenta efecto antiespasmódico en las tres dosis evaluadas.. La atropina que fue utilizado como fármaco patrón presentó porcentajes de avance de 11.69 a 25.00%.

Los valores del porcentaje de avance del marcador dentro de un mismo grupo experimental no son tan próximos debido a las características anatómicas, fisiológicas intrínsecas de cada animal de experimentación, diferencias que también se presentaron en estudios previos con el mismo modelo de experimentación.

En el cuadro N°4.13 se muestran las medias, la desviación típica y los valores máximos y mínimos de cada grupo experimental donde se observa que el grupo control (solución tween 1%) presenta los mayores porcentajes de avance del marcador que van desde 80.2 hasta 89.2 frente al efecto del aceite esencial a las dosis de 0.5, 1, 2 mg/Kg y el fármaco patrón (atropina) con medias de 54.9%, 43.5%, 39.8% y 19.9% respectivamente.

En el cuadro N° 4.14 apreciamos el resultado del análisis de varianza, donde según la prueba del ANOVA, existen diferencias significativas entre los grupos experimentales, con un nivel de significancia igual a 0.000; indicando que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" por medición del tránsito intestinal en ratones albinos presenta efecto antiespasmódico.

Según el análisis de Duncan (cuadro N° 4.15), se tiene el resultado ordenado de manera jerárquica, es decir de acuerdo al efecto

antiespasmódico que puedan tener, donde se observa como primer grupo, al patrón (atropina) seguido por los grupos (2mg/Kg, 1mg/Kg) de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" agrupados en un mismo grupo, como tercero al grupo 0.5mg/Kg y finalmente al grupo control (solución fisiológica). El promedio del porcentaje de avance que presentaron los grupos experimentales (2mg/kg 1mg/kg y 0.5mg/kg), son diferentes estadísticamente al grupo control y patrón.

El aceite esencial a las dosis de 0.5, 1, 2 mg /Kg con porcentajes de avance del marcador de 54.9 ± 6.2 , 43.5 ± 13.7 , 39.8 ± 13.7 presentan mejor efecto que el extracto metanólico de *Punica granatum* (300mg/Kg), el extracto etanólico y el preparado acuoso de *Cydonia oblonga* Miller (3, 30, 300 mg/Kg). Pero no tiene mejor efecto que la tintura de *Psidium guajava* L. (200, 400, 800mg/Kg) y el extracto de *Piper auritum* al 45% (500, 1000, 1500mg/Kg).

Se señala que los aceites esenciales poseen amplias perspectivas de uso y potencial farmacológico, se mencionan algunos componentes antiespasmódicos de aceites esenciales, entre ellos: 1,8 cineol y eugenol (*Ocimum gratissimum*), timol (*Thymus membranaceus*, *Acapypha pheloides*), carvacrol (*Satureja hortensis*), estragol y anetol (*Croton zehntneri*), α y β - pinenos (*Ferula gummosa*), nonanal (*Artemisia ludoviciana*), linalol (*Lavándula angustifolia*). (6)

4.4 RESULTADOS DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO EX VIVO

4.4.1 RESULTADOS DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Artemisia absinthium* L SOBRE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ÍLEON AISLADO DE COBAYO

CUADRO N° 4.16

PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO al 70% DE *Artemisia absinthium* L (AJENJO) EN ÍLEON AISLADO DE COBAYO

Concentración	CA:0.03mg/mL	CEH:900µg/mL	CEH:1200µg/mL	CEH:1500µg/MI
Porcentaje de inhibición %	94.4	89.06	94,1	92,7
	92.4	90.25	94,5	93,7
	94.6	92.15	95,5	91,5
	94.1	91.68	91,0	92,0
	93.1	92.28	93,7	92,6
	94.7	91.49	87,5	94,3
	94.8	86.40	91,5	95,3
	93.5	94.80	92,5	94,9
	92.3	88.80	93,8	92,5
	91.8	93.60	92,2	91,1
	95.4	92.50	87,8	92,7
	93.1	92.68	84,5	93,5
	86.5	91.59	80,0	93,3
	89.3	89.47	89,9	95,7
	86.0	92.62	92,0	94,4

CA: Concentración de atropina, CEH: Concentración de extracto hidroalcohólico

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N° 4.17

CUADRO DE LAS MEDIAS, DESVIACION TÍPICA, MÍNIMOS Y MÁXIMOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Artemisia absinthium* L.

GRUPOS EXPERIMENTALES	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Patrón (Atropina)	15	92.4	2.9	86.0	95.4
900 ug	15	91.2	2.6	84.9	95.0
1200 ug	15	90.7	4.2	80.0	95.5
1500 ug	15	93.3	1.4	91.1	95.7
Control	15	0.8	0.7	0.1	1.9

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.18
ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	99762.507	4	24940.627	3546.256	.000
Intra-grupos	492.306	70	7.033		
Total	100254.813	74			

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.19
PRUEBA DE DUNCAN DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L.

Duncan				
CONCENTRACIONES EXTRACTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	15	0.8		
1200 µg/ml	15		90.7	
900 µg/ml	15		91.2	
Patrón (Atropina)	15			92.4
1500 µg/ml	15			93.3
Sig.		1.000	0.101	0.332

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión:

El cuadro N° 4.16 muestra los resultados de la experimentación ex vivo de la determinación del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico 70% de *Artemisia absinthium* L. donde están los valores del porcentaje de inhibición de las contracciones basales de íleon aislado de cobayo. Donde se observa que los porcentajes de inhibición de todos los grupos experimentales están por encima del 80% demostrando que el extracto hidroalcohólico 70% de *Artemisia absinthium* L. a las concentraciones de 900µg/mL, 1200µg/mL, 1500µg/mL disminuye la amplitud de las contracciones basales similar a la concentración 0.03 mg/mL de atropina.

En el cuadro N° 4.17, se muestran las medias, la desviación típica y los valores máximos y mínimos de cada grupo experimental donde se observa que el grupo control presenta los menores porcentajes de inhibición que van desde 0.1 hasta 1.9 frente al efecto del extracto hidroalcohólico 70% a las

concentraciones de 900 µg/mL, 1200 µg/mL, 1500 µg/mL y el fármaco patrón (atropina) con medias de porcentaje de inhibición 91.2%, 90.7%, 93.3% y 92.4% respectivamente.

En el cuadro N° 4.18 apreciamos el resultado del Análisis de Varianza, donde según la prueba del ANOVA, existen diferencias significativas entre los grupos experimentales, con una significancia igual a 0.000; es decir el efecto Antiespasmódico del Extracto Hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" por medición del porcentaje de inhibición, es diferente comparado al grupo control y grupo patrón.

El extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. disminuyó significativamente la amplitud de las contracciones basales de íleon aislado de cobayo comparadas con el grupo control, de igual forma la atropina evidencio su conocida actividad antiespasmódica, disminuyendo considerablemente la amplitud de las contracciones basales en íleon aislado de cobayo.

Según el análisis de Duncan (cuadro N°4.19), se tiene el resultado ordenado de manera jerárquica en relación al efecto antiespasmódico, es decir a mayor porcentaje de inhibición de la amplitud de contracciones presenta mejor efecto, se aprecia a los grupos patrón (atropina), 1500µg/mL (extracto) y a los grupos 900ug/mL, 1200ug/mL en un mismo subconjunto. El promedio del porcentaje de inhibición que presentaron los grupos experimentales (900ug/mL, 1200ug/mL), son diferentes estadísticamente al grupo control y patrón y se aprecia que el extracto a una concentración de 1500ug tiene efecto similar a la atropina.

El efecto espasmolítico de los extractos etanólicos de *Piper auritum* al 45% sobre las contracciones basales de yeyuno aislado de conejo redujo significativamente la amplitud de las contracciones basales a las concentraciones de 0.4800, 0.7275, 0.9700mg/mL con una disminución de la amplitud de 61.2 ± 13.5 , 61.4 ± 14.3 , $45.29 \pm 17.06\%$ y extracto etanólico de *Piper auritum* al 80% a las concentraciones de 0.0699, 0.1398, 0.2097mg/mL con una disminución de la amplitud de 66.3 ± 12.8 , 58.9 ± 17.5 , 47.8 ± 17.7 (7). El extracto clorofórmico de *Encyclia michuacana*

produjo una inhibición significativa de la amplitud de las contracciones en íleon aislado de cobayo a las dosis de 50µg, 100µg, 200µg y 300µg/mL con porcentajes de inhibición de 32.56 ± 3.87 , 59.64 ± 3.33 , 83.56 ± 9.54 , 94.61 ± 3.67 %, el extracto acuoso de *Encyclia michuacana* a las concentraciones de 50µg, 100µg, 200µg y 300µg/mL con porcentajes de inhibición de 4.33 ± 3.50 , 5.70 ± 3.36 , 7.69 ± 8.42 , 10.85 ± 1.04 respectivamente. (26)

El extracto hexánico, acetato de etilo y metanólico de *Minthostachys mollis* (muña), a las concentraciones de 50, 100, 150 y 200 ug/mL, muestran un porcentaje de inhibición de las contracciones para el extracto hexánico de 11.48%, para el extracto de acetato de etilo de 13.07% y para el extracto metanólico de 42.96%, considerando al extracto hexánico y al de acetato de etilo como de acción antiespasmódica débil. Los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico de *Senecio nutans*, a las concentraciones de 12.5, 25, 37.5, 50 µg/mL, muestran un porcentaje de inhibición de las contracciones basales para el extracto hexánico y de acetato de etilo de 6.64%, y para el extracto metanólico de 65.23% considerando al extracto hexánico y al de acetato de etilo como de acción antiespasmódica débil. (15)

El efecto antiespasmódico mostrado por el extracto hidroalcohólico al 70% *Artemisia absinthium* L. a la dosis de 1500 µg/mL con un porcentaje de inhibición de las contracciones basales de 93.3%, no tiene diferencias significativas con el efecto mostrado de la atropina fármaco de acción antiespasmódica conocida a las concentraciones de 0.03mg/mL, este resultado da fortaleza al efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. ajenjo.

4.4.2 RESULTADOS DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L SOBRE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ÍLEON AISLADO DE COBAYO

CUADRO N° 4.20

PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L (AJENJO) EN ÍLEON AISLADO DE COBAYO

Concentración	CA:0.03mg/mL	CAE:0.05mg/mL	CAE:0.1mg/mL	CAE:0.2mg/mL
Porcentaje de inhibición	94.4	34,5	78,3	91,6
	92.4	53,1	80,3	94,4
	94.6	62,9	79,6	91,2
	94.1	56,9	64,6	89,6
	93.1	55,6	81,8	92,8
	94.7	46,1	73,6	91,8
	94.8	56,4	74,3	90,4
	93.5	62,9	63,0	90,3
	92.3	45,0	75,7	88,6
	91.8	54,2	77,1	83,5
	95.4	57,8	75,5	92,0
	93.1	28,3	79,3	84,4
	86.5	45,9	75,2	92,1
	89.3	53,0	80,6	91,4
	86.0	45,7	83,8	87,6

CA: Concentración atropina CAE: Concentración de aceite esencial

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N° 4.21

CUADRO DE LAS MEDIAS, DESVIACION TÍPICA, MÍNIMOS Y MÁXIMOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Patrón (Atropina)	15	92.4	2.9	86.0	95.4
0.05 mg	15	50.6	9.7	28.3	62.9
0.1 mg	15	76.2	5.8	63.0	83.8
0.2 mg	15	90.1	3.0	83.5	94.4
Control	15	0.8	0.7	0.1	1.9

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N°4.22

**ANÁLISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.**

ANOVA

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	86925.166	4	21731.292	740.567	.000
Intra-grupos	2054.089	70	29.344		
Total	88979.255	74			

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.23

**PRUEBA DE DUNCAN DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.**

Duncan					
CONCENTRACIONES ACEITE	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Control	15	0.8			
0.05 mg	15		50.6		
0.1 mg	15			76.2	
0.2 mg	15				90.1
Patrón (Atropina)	15				92.4
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.252

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión:

El cuadro N° 4.20 muestra los resultados de la experimentación ex vivo de la determinación del efecto antiespasmódico del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. donde están los valores del porcentaje de inhibición de las contracciones basales de íleon aislado de cobayo. Donde se observa que los porcentajes de inhibición de la concentración 0.05mg/mL de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. van de 28.3% hasta 62.9%, los porcentajes de 0.1mg/mL de aceite esencial van de 63% a 83.8% y la concentración de 2mg/mL con porcentajes de 83.5% a 94.4% estos cercanos a los porcentajes obtenidos de la concentración 0.03 mg/mL de atropina, existiendo un incremento del porcentaje de inhibición en relación al incremento de la concentración de aceite esencial.

En el cuadro N° 4.21, se muestran las medias, la desviación típica y los valores máximos y mínimos de cada grupo experimental donde se observa que el grupo control presenta los menores porcentajes de inhibición que van desde 0.1 hasta 1.9 frente al efecto del aceite esencial a las concentraciones de 0.05mg/mL, 0.1mg/mL, 0.2mg/mL y el fármaco patrón (atropina) con medias de porcentaje de inhibición 50.6%, 76.2%, 90.1% y 92.4% respectivamente.

En el cuadro N° 4.22 apreciamos el resultado del Análisis de Varianza, donde según la prueba del ANOVA, existen diferencias significativas entre los grupos experimentales, con un nivel de significancia igual a 0.000; indicando que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" tiene efecto antiespasmódico.

Según el análisis de Duncan (Cuadro N° 4.23), se tiene el resultado ordenado de manera jerárquica considerando el efecto antiespasmódico, donde se observa que el Aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" tiene efecto Antiespasmódico, el promedio del porcentaje de inhibición que presentaron los grupos experimentales (0.05mg, 0.1mg y 0.2mg), son diferentes estadísticamente al grupo control y también entre ellos, sin embargo se aprecia que el aceite a una concentración de 0.2mg tiene un efecto antiespasmódico igual a la atropina.

El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. a diferentes concentraciones disminuyó significativamente la amplitud de las contracciones basales en íleon aislado de cobayo comparadas con el grupo control.

En íleon aislado de rata el aceite esencial de *T. Fallax* inhibió la amplitud de las contracciones en un 100% a la concentración de 1mg/mL. (24). El aceite esencial de *piper auritum* redujo significativamente la amplitud de las contracciones basales en yeyuno aislado de conejo, se trabajó con las concentraciones de 2, 3,5 mg/mL, obteniendo una disminución de la amplitud de la motilidad espontánea de 60.93 ± 20.52 , 47.12 ± 15.50 , 16.73 ± 6.54 % con un porcentaje de inhibición cercana al 83.27% de la amplitud de las contracciones basales a la dosis de 5mg/mL (32).

La acción antiespasmódica del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. a las concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2mg/mL con porcentajes de inhibición de 50.58 ± 9.74 , 76.18 ± 5.81 , 90.11 ± 3.00 % muestra un mejor efecto comparadas con los aceites esenciales de *T. fallax* y *piper auritum*. La concentración de mayor efecto en nuestro experimento fue de 0.2mg/mL con un porcentaje de inhibición de las contracciones basales de 90.11%, que comparado con la acción de la atropina de acción antiespasmódica conocida a la concentración de 0.03mg/mL con un porcentaje inhibición de las contracciones basales de 92.4% no presentan diferencias significativas entre sí.

4.4.3 RESULTADOS DE LA RESPUESTA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Artemisia absinthium* L. EN ÍLEON AISLADO DE COBAYO FRENTE A LA INDUCCIÓN POR ACETILCOLINA

CUADRO N° 4.24

DATOS DE LAS AMPLITUDES MÁXIMAS DESPUÉS DE LA INDUCCIÓN CON ACETILCOLINA

	900µg/mL	1200 µg/mL	1500 µg/mL	Control	Atropina: 0.03mg/mL
Primera Lectura (mV)	9.81	9.29	10.29	16.85	0.29
Segunda lectura(mV)	11.05	10.23	9.44	16.89	0.25
Tercera lectura (mV)	13.13	11.92	9.95	14.77	0.60

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N° 4.25

CUADRO DE LAS MEDIAS, DESVIACION TÍPICA, MÍNIMOS Y MÁXIMOS DE LAS AMPLITUDES MÁXIMAS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Artemisia absinthium* L.

GRUPOS EXPERIMENTALES	Nº de Ensayos	Media Contracciones (mV)	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Patrón (Atropina)	3	0.4	0.2	0.3	0.6
900µg	3	11.3	1.7	9.8	13.1
1200 µg	3	10.5	1.3	9.3	11.9
1500µg	3	10.0	.4	9.4	10.3
Control	3	16.2	1.2	14.8	16.9

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N°4.26

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO 70% DE *Artemisia absinthium* L. FRENTE A LA ACETILCOLINA

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	396.031	4	99.008	78.612	.000
Intra-grupos	12.594	10	1.259		
Total	408.626	14			

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N°4.27

PRUEBA DE DUNCAN DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Artemisia absinthium* L. FRENTE A LA ACETILCOLINA

Duncan ^a				
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Patrón (Atropina)	3	0.4		
1500 ug	3		10	
1200 ug	3		10.5	
900 ug	3		11.3	
Control	3			16.2
Sig.		1.000	.180	1.000

Fuente: Datos experimentales

Tomando como 100% la máxima amplitud de contracción del grupo control podemos hallar el porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico frente a la acción de acetilcolina, como muestra el siguiente cuadro.

CUADRO N° 4.28

PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO *Artemisia absinthium* L. FRENTE A LA ACETILCOLINA

	% de inhibición
DE. 900ug/ml	29.93
DE.1200ug/ml	35.18
DE. 1500ug/ml	38.47
Atropina 0.03mg/ml	97.63

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

El cuadro N° 4.24 se observan los resultados de la experimentación ex vivo de la determinación del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. frente a la inducción con acetilcolina donde están los valores de la amplitud máxima después de la inducción con acetilcolina en íleon aislado de cobayo a las concentraciones 900µg/mL, 1200µg/mL, 1500µg/mL del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. y a la

concentración 0.03 mg/mL del fármaco patrón atropina. Donde se observa que las diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico al 70% disminuyen la amplitud máxima de contracción de íleon hasta 9.44 mV frente a la inducción con acetilcolina comparadas con el grupo control con amplitudes de 14.77 a 16.89 mV. Sin embargo el efecto mostrado por el extracto hidroalcohólico 70% no se aproxima a los resultados de la atropina con amplitudes máximas alcanzadas después de la inducción con acetilcolina de 0.25 hasta 0.6 mV.

En el cuadro N° 4.25, se muestran las medias, la desviación típica y los valores máximos y mínimos de cada grupo experimental donde se observa que el grupo control presenta los valores más altos de máxima amplitud de 14.8 hasta 16.9 frente al efecto del extracto a las concentraciones de 900µg/mL, 1200µg/mL, 1500µg/mL y el fármaco patrón (atropina) con medias de máxima amplitud de 11.3mv, 10.5mv, 10.0mv y 0.4mv respectivamente.

En el cuadro N° 4.26 apreciamos el resultado del Análisis de Varianza, donde según la prueba ANOVA, existen diferencias significativas entre los grupos experimentales, con una significancia de 0.000 a un nivel de 95% de confianza.

Según el análisis de Duncan (cuadro N° 4.27), se tiene el resultado ordenado de manera jerárquica en relación a la respuesta a acetilcolina, donde se observa que el Extracto Hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. "Ajeno" en baño de órganos a nivel de Íleon Aislado de Cobayo tiene efecto Antiespasmódico a diferentes concentraciones, estando como primer grupo el grupo patrón (atropina) seguido por los grupos experimentales 900ug/mL, 1200ug/mL y 1500ug/mL agrupados en un mismo subconjunto es decir con un mismo efecto y finalmente el grupo control.

En el cuadro N° 4.28 se observa que el extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* L. a las concentraciones de 900ug/mL, 1200ug/mL, 1500ug/mL y 0.03mg/mL del fármaco patrón presentan porcentajes de inhibición de 29.93%, 35,18%, 38,47% y 97.63% frente a la inducción por acetilcolina.

El extracto hidroalcohólico a las concentraciones de 1500, 1200 y 900 µg/mL redujo significativamente la amplitud de la contracción máxima después de la acción de la acetilcolina frente al grupo control. Comparando con el fármaco patrón presentó una ligera disminución de la amplitud máxima.

El extracto metanólico acuoso de *Artemisia absinthium* L. a las concentraciones de 0.1-1mg/mL inhibe los movimientos espontáneos de yeyuno aislado de conejo. Frente a la inducción con KCl 40mM. La adición de 0.1mg/mL produce una ligera inhibición mientras que a la concentración de 0.3 mg/mL produce un 50% de relajación del yeyuno aislado de conejo. La ausencia de calcio en la solución fisiológica de Krebs inhiben las contracciones espontaneas, la adición de calcio (15-25µM) restaura las contracciones espontaneas. La acción del extracto de la planta en yeyuno de conejo en la solución de Krebs libre de calcio, frente a la adición de calcio (15-25µM), no restauró las contracciones espontaneas en el tejido en la presencia del extracto a la concentración de 0.3mg/mL. Llegando a la conclusión que extracto metanólico - acuoso de *Artemisia absinthium* L. actúa bloqueando los canales de calcio. (23)

El extracto clorofórmico de *Encyclia michuacana* antagonizó la contracción del íleon aislado de rata inducida por acetilcolina de forma significativa a las concentraciones de 50, 100,200 y 300 µg/mL con porcentajes de inhibición de 34.74 ± 1.21 , 52.1 ± 0.20 , 81.36 ± 9.08 y 92.23 ± 1.15 respectivamente.(26) El extracto metanólico de *Mithostachys mollis* (muña) antagonizo la contracción del íleon aislado de rata inducida por acetilcolina a las concentraciones de 50, 100, 150, y 200µg/mL con porcentajes de inibición de 19.44, 49.02, 50.76, y 63.16% respectivamente (15). El extracto metanólico de *Senecio nutans* (chachacoma) antagonizo la contracción del íleon aislado de rata inducida por acetilcolina a las concentraciones de 12.5, 25, 37.5, y 50µg/mL con porcentajes de inhibición de 23.95, 34.62, 52.40 y 75.29% respectivamente. La tintura de *Melissa officinalis* L. al 20 % redujo de modo significativo la contracción provocada por la acetilcolina sobre el íleon aislado de cobayo con concentraciones de 0,084; 0,169 y 0,338 mg/mL con Los porcentajes relativos de respuesta contráctil y su variación con

respecto a la respuesta máxima contráctil fueron de 98,75; 91, 12; 86,40; 78,22 y 61,50 % para el solvente y las dosis (15).

Los datos obtenidos no permiten concluir en el modo de acción del extracto y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. teniendo que ser evaluados frente a diferentes agonistas (histamina, serotonina, cloruro de bario, etc); pero al analizar los resultados obtenidos se puede afirmar que la planta posee acción antiespasmódica en íleon aislado de cobayo.

4.4.4 RESULTADOS DE LA RESPUESTA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. EN ÍLEON AISLADO DE COBAYO FRENTE A LA INDUCCIÓN POR ACETILCOLINA

CUADRO N° 4.29
DATOS DE LAS AMPLITUDES MÁXIMAS DESPUÉS DE LA INDUCCIÓN CON ACETILCOLINA

	0.05mg/mL	0.1mg/mL	0.2mg/mL	Control	Atropina 0.03mg/mL
Primera Lectura (mv)	8.64	3.6	1.72	16.85	0.29
Segunda lectura(mv)	10.72	3.64	1.63	16.89	0.25
Tercera lectura (mv)	9.66	3.55	1.58	14.77	0.60

Fuente: Datos experimentales

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

CUADRO N° 4.30
CUADRO DE LAS MEDIAS, DESVIACION TÍPICA, MÍNIMOS Y MÁXIMOS DE LAS AMPLITUDES MÁXIMAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

	N	Media Contracciones (mV)	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Patrón (Atropina)	3	0.4	0.2	0.3	0.6
0.05 mg	3	9.7	1.0	8.6	10.7
0.1 mg	3	3.6	0.1	3.5	3.6
0.2 mg	3	1.6	0.1	1.6	1.7
Control	3	16.2	1.2	14.8	16.9

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N° 4.31
ANÁLISIS DE VARIANZA DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. FRENTE A LA
ACETILCOLINA

ANOVA	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	518.863	4	129.716	253.519	.000
Intra-grupos	5.117	10	.512		
Total	523.980	14			

Fuente: Datos experimentales

CUADRO N°4.32
PRUEBA DE DUNCAN DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. FRENTE A LA ACETILCOLINA

CONCENTRACIONES ACEITE	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Patrón (Atropina)	3	0.4			
0.2mg	3	1.6			
0.1 mg	3		3.6		
0.05 mg	3			9.7	
Control	3				16.2
Sig.		.056	1.000	1.000	1.000

Fuente: Datos experimentales

Tomando como el 100% al control podemos hallar el porcentaje de inhibición del aceite esencial frente a la acción a la acetilcolina, como muestra el siguiente cuadro

CUADRO N° 4.33
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia*
***absinthium* L. FRENTE A LA ACETILCOLINA**

	% de Inhibición
DAE 0.05mg/mL	40.25
DAE 0.1mg/mL	78.01
DAE 0.2mg/mL	89.83
Atropina 0.03mg/mL	97.63

Fuente: Datos experimentales

Análisis y discusión

El cuadro N° 4.29 muestra los resultados de la determinación del efecto antiespasmódico del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a la acetilcolina, donde están los valores de la amplitud máxima después de la inducción con acetilcolina en íleon aislado de cobayo. Donde se observa que la concentración 0.05mg/mL alcanza amplitudes de 8.64 a 10.72mV; la concentración 0.1mg/mL de 3.55 a 3.6mV y 0.2mg/mL de 1.58 a 1.72 mV, esta última concentración de aceite esencial tiene amplitudes cercanas a las obtenidas por la concentración 0.03 mg/mL de atropina. El aceite esencial en sus diferentes concentraciones muestra amplitudes máximas menores a las obtenidas en el grupo control que van de 14.77 a 16.89mV.

En el cuadro N° 4.30, se muestran las medias, la desviación típica y los valores máximos y mínimos de cada grupo experimental donde se observa que el grupo control presenta los valores mas altos de máxima amplitud de 14.8 hasta 16.9 frente al efecto del aceite esencial a las concentraciones de 0.05mg/mL, 0.1mg/mL, 0.2g/mL y el fármaco patrón (atropina) con medias de máxima amplitud de 9.7mv, 3.6mv, 1.6mv y 0.4mv respectivamente.

En el cuadro N° 4.31 apreciamos el resultado del Análisis de Varianza, donde según la prueba del ANOVA, existen diferencias significativas entre los grupos experimentales, con un nivel de significancia igual a 0.000.

Según el análisis de Duncan (Cuadro N° 4.33), se tiene el resultado ordenado de manera jerárquica en relación a la respuesta a acetilcolina, donde se observa que el promedio de contracciones que presentaron los grupos experimentales (0.2 mg, 0.1mg y 0.05mg), son diferentes estadísticamente al grupo control y también entre ellos, sin embargo se aprecia que el Aceite Esencial a una concentración de 0.2mg tiene el mismo efecto que la atropina, con un nivel de significancia de 0.056.

El cuadro N° 4.34 se observa que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. a las concentraciones de 0.05mg/mL, 0.1mg/mL, 0.2mg/mL y 0.03mg/mL del fármaco patrón presentan porcentajes de inhibición de 40.25%, 78.01%, 89.83% y 97.63% frente a la inducción por acetilcolina.

El aceite esencial a las concentraciones de 0.05, 0.1 y 0,2 mg/mL redujo significativamente la amplitud de la contracción máxima después de la acción de la acetilcolina frente al grupo control. Comparando con el fármaco patrón, a la concentración 0.03mg/mL frente a la concentración de 0.2 mg/mL de aceite esencial, no presenta diferencias significativas en la disminución la amplitud de la contracción máxima, podemos decir que presentan la misma acción frente a la inducción de acetilcolina de íleon aislado de cobayo, la inhibición marcada de la contracción máxima inducida por la acetilcolina confirma la acción antiespasmódica del aceite esencial. Según estos datos podemos decir que un probable modo de acción del aceite esencial es sobre los receptores muscarínicos, teniéndose que evaluar la acción de aceite esencial frente a otros inductores de la contracción.

Los datos obtenidos no permiten concluir en el modo de acción del extracto y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. teniendo que ser evaluados frente a diferentes agonistas (histamina, serotonina, cloruro de bario, etc); pero al analizar los resultados obtenidos se puede afirmar que la planta posee acción antiespasmódica en íleon aislado de cobayo.

CONCLUSIONES

1. El aceite esencial y el extracto hidroalcohólico al 70% de de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" presentaron efecto antiespasmódico in vivo y ex vivo.
2. El análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. mostró la presencia de alcaloides, glicósidos, taninos, resinas, saponinas, lactonas y azúcares reductores. El extracto hidroalcohólico al 70% de *Artemisia absinthium* L. es muy soluble en solventes polares y poco soluble e insoluble en solventes apolares.
3. El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. es muy soluble en solventes apolares, poco soluble en etanol 96° e insoluble en solventes polares. El aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. tiene una densidad de 0.899mg/mL, índice de refracción de 1.468; índice de acidez de 0.1768, índice de saponificación de 0.0629, índice de ester de 0.1139. En la caracterización de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. por análisis de GC-MS se obtuvieron como metabolitos mayoritarios a 3-tujene, sabineno, β - mirceno, ocimeno, isocitronellene, linalol, β - tuyona, α - tuyona, Oxirane, 2-(Hexyn-1yl)-3 methoxymethylene, myrtenyl acetate.
4. Se evaluó el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. por el porcentaje de avance del tránsito intestinal del marcador (carbón activado) en ratones albinos. Con porcentajes de avance del marcador para el extracto a las dosis de: 600mg/Kg con 38.8%, 800mg/Kg con 47.9% y 1000mg/Kg con 46.1%; para el aceite esencial a las dosis de: 0.5mg/Kg con 54.9%, 1mg/Kg con 43.5% y 2mg/Kg con 39.8%; para el fármaco patrón la atropina a la dosis de 1mg/Kg con 19.9% que comparadas con el grupo control 84.7% evidencian su efecto antiespasmódico.
5. Se evaluó el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo" sobre las contracciones basales de íleon aislado de cobayo. Con porcentajes de inhibición de la amplitud de las contracciones basales

del extracto a las concentraciones de 900µg/mL con 91.3%, 1200µg/mL con 90.7% y 1500µg/mL con 93.4%, para el aceite esencial a las concentraciones de 0.05mg/mL de 50.6%, 0.1mg/mL de 76.2% y 0.2mg/mL de 90.1%, para el farmaco patrón la atropina a la concentración 0.03mg/mL con 92.4% que comparadas con el grupo control 0.8% evidencian su efecto antiespasmódico.

6. Se evaluó el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo", frente a la inducción con acetilcolina en íleon aislado de cobayo, donde se evaluó la máxima amplitud después de la adición de acetilcolina, para el extracto a las concentraciones: 900µg/mL de 11.3mv, 1200µg/mL de 10.5mv, y 1500µg/mL de 10mv; para el aceite esencial a las concentraciones de 0.05mg/mL de 9.7mv, 0.1mg/mL de 3.6mv y 0.2mg/mL de 1.6mv; para la atropina a la concentración 0.03mg/mL de 0.4mv y para el grupo control de 16.2mv.

SUGERENCIAS

A LAS AUTORIDADES Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- 1.- Incrementar el monto del apoyo económico que se les da a los tesisistas de esta universidad, o cubrir en un determinado porcentaje del gasto en referencia al monto total invertido durante el desarrollo del trabajo de investigación.
- 2.- Implementar los laboratorios de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica, Química con énfasis en aquellos destinados al estudio botánico, fitoquímico y farmacológico de plantas medicinales tanto con equipos de última tecnología y los reactivos o patrones necesarios para su correcto funcionamiento y accesibilidad.
- 3.- Buscar convenios con Institutos, Universidades y centros de investigación nacionales como internacionales, dedicados al estudio de plantas medicinales para desarrollar un programa de intercambio estudiantil, en la que los estudiantes de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica puedan adquirir mayor conocimiento y experiencia en cuanto investigación.

A LOS ESTUDIANTES DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- 1.- Seguir desarrollando trabajos de investigación aprovechando la biodiversidad de nuestro medio así como el apoyo y apertura que nuestros docentes nos brindan y no buscar caminos fáciles y cortos en busca del éxito.
- 2.- Realizar la cuantificación de alcaloides, glicósidos, taninos, saponinas y lactonas presentes en el extracto etanólico al 70% de *Artemisia absinthium* L.
- 3.- Realizar un estudio comparativo del efecto antiespasmódico del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. frente a inductores e inhibidores de la contracción basal del íleon aislado de cobayo.
- 4.- Realizar un estudio para determinar la toxicidad aguda en ratones albinos del extracto hidroalcohólico al 70% y del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

BIBLIOGRAFÍA

1. **VILLEGAS VÍLCHEZ LEÓN F. MSC. (2006)** La investigación universitaria y el desarrollo integral de la biodiversidad en el Perú Facultad de Ciencias y Filosofía Universidad Peruana Cayetano Heredia.
2. **AGUSTÍN JULIÁN JIMÉNEZ (2001)** Coordinador. "Manual de protocolos y actuación en urgencias para residentes" Complejo Hospitalario de Toledo - España.
3. **BARBOZA, E. (1999)** "Principios y terapéutica quirúrgica". Lima. Didi de Arteta.
4. **BRACK A. (1999)**. "Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Ed. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas". Cusco – Perú; p:48-95.- Vanaclocha
5. **VANACLOCHA B. SALVADOR (2003)** "Fitoterapia - Vademecum de Prescripción". 4ª edición. Barcelona: Elsevier – Masson, Barcelona – España.
6. **ASTUDILLO-VÁZQUEZ A., MATA RACHEL, NAVARRETE ANDRÉS (2008)** "El Reino Vegetal, Fuente de Agentes Antiespasmódicos Gastrointestinales y Antidiarreicos"
7. **GRACIA M. ANA JULIA, MARTÍNEZ T. MARÍA DEL CARMEN, MORÓN R. FRANCISCO (2001)** "Actividad Antiespasmódica de Extractos de Piper auritum en Intestino" Facultad de Medicina Dr. "Salvador Allende" Revista Cubana Plantas Medicinales 2001; (1):19-22
8. **EXPERIMENTO SOBRE ÓRGANO AISLADO**
 - a. http://www.geocities.com/pharmacology_unal/OrgAislado.html
9. **ESTOMBA DIEGO, LADIO ANA, LOZADA MARIANA. (2005)** "Plantas Medicinales Utilizadas por una Comunidad Mapuche en las cercanías de Junín de los Andes, Neuquén." Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Noviembre año/vol. 4, número 006. Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica. Santiago – Chile. Pp: 107-112.

10. **BERNAT V., SALVADOR C., (2003)** "Fitoterapia Vademécum De Prescripción" MASSON Editorial, Cuarta edición, Barcelona España.
11. **LLORENS M. JUAN A., CASTELL Z. VICENTE, PASCUAL R. RAFAEL (2008)** "Composición Del Aceite Esencial De *Artemisia absinthium* L. Procedente Del Término Municipal De Calamocha (Teruel). Caracterización De Su Quimiotipo Y Estudio De Las Variaciones Estacionales". Universidad Politécnica de Valencia Revista Xiloca. 36 pag 61-84.
12. **BASTA A., TZAKOU O., COULADIS M., PAVLOVIC M. (2007)** "Composición Química De La *Artemisia absinthium* L. De Grecia" *Journal of essential oil research, Grecia*.
13. **ANNE ORAVA, AIN RAALB, ELMAR ARAKB, MATI MÜÜRISEPPA, AND TIJU KAILASA (2005)** "COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. DE DIFERENTES ORIGENES GEOGRÁFICOS" Proc. Estonian Acad. Sci. Chem. 2006, 55, 3, 155–165.
14. **IBARRA C. BRAYANA, TUNQUI N. GINA (2009)** "ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. FRENTE A *Trichophyton rubrum* y *Candida albicans*, DERMATOTOXICIDAD Y ELABORACIÓN DE UNA FORMA FARMACÉUTICA" Universidad San Antonio Abad del Cusco - Perú
15. **CHAVEZ S. JENNIFER D. y SUCARI M. FLOR M. (2009)** "Estudio del efecto espasmolítico *in vitro* DE LOS EXTRACTOS DE *Mintostachys mollis* (Muña) y *Senecio nutans* (Chachacoma) en íleon aislado de *Rattus norvegicus*" Universidad Católica de Santa María.
16. **OCHOA CHRISTIAM L., CHAPOÑAN MARTIN O., GRANDA CECILIA A., QUINTANA WILLY, CHAULLCO XAVIER W., PUERTA EVERTH B., GUTIERREZ GRAHAM (2008)**. "Efecto Antidiarréico Y Antiespasmódico Del Extracto Metanólico De *Punica granatum* L. (Granada) En Ratonés" Informe final de investigación experimental curso de farmacología 2008. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina San Fernando Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

17. **FLORES L. KARLA O., HERRERA M. RUBÍ I. (2003)** "Efecto del Extracto: Ajenjo, Paico Y Ajenjo más Paico en Tratamiento de Parasitosis Intestinal en Niños: 6 – 9 Años. Colegio 020 "Hilario Carrasco Vines" Corrales - Tumbes."
18. **MAHMOUDL, M., EBRAHIMZADEH, M. A., ANSAROUDI, F., NABAVI, S. F. AND NABAVI, S. M. (2009)** "Actividad Antidepresiva Y Antioxidante De *Artemisia absinthium* L. En Etapa De Florecimiento" African Journal of Biotechnology. Vol. 8 (24), pp. 7170-7175, 15 December 2009.
19. **COMMITTEE ON HERBAL MEDICINAL PRODUCTS (HMPC) (2009)** "Reporte Científico Sobre *Artemisia absinthium* L., Hierba" Agencia de Medicina Europea, Evaluación de Medicinas para Consumo Humano.
20. **RODRÍGUEZ-PÉREZ, M.; MARTÍNEZ, J.M.; RIVERO, L.R.; ÁLVAREZ, H.M.H.; VALDEZ, A.F.C.; RODRÍGUEZ, D.A.; LIZAMA, R.S.; PAYROL, J.A. (2006)** "Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana." Departamento de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Revista Ciencias Farmacéuticas. Básica y Aplicada., v. 27, n.3, p.197-205, 2006 ISSN 1808-4532 La Habana - Cuba.
21. **SABAN KORDALI, IRÍAN ASÍAN, ONDER ÇALMASURA, AHMET ÇAKIR (2006)** "Toxicidad Del Aceite Esencial Aislado De Tres Especies De *Artemisia* Y De Algunos De Sus Principales Componentes Frente A Gorgojo Del Granero, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleóptera: Curculionidae)". Industrial Crops and Products 23; 162-170.
22. **GUERRA O. MARTA, TORRES I. DINORAH, MARTÍNEZ P. LETICIA (2001)** "Validación del Uso Tradicional de Plantas Medicinales Cultivadas En Cuba." Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) Revista Cubana Plantas Medicinales, 2001(2):48-51

23. **ANWAR-UL HASSAN GILANI AND KHALID HUSSAIN JANBAZ (1995)** "Prevención y Efectos Curativos De *Artemisia absinthium* Sobre La Hepatotoxicidad Inducida Por Acetaminofen y CCL₄" Gen Pharmacy. Vol 26 n°2, pp309-1995.
24. **GOZE ISMIHAN, ALIM AHMET, AKKUS C. SENAY, DURMUS NEDIM, VURAL NILUFER, MURAT G. HAMDİ (2009)** "Composición química y actividad antioxidante, antimicrobiana y antiespasmódico del aceite esencial de *Thymus Fallax* Fisch. Mey"
25. **ROMERO MARCO A., DÁVALOS HORTENCIA N., ASTUDILLO V. ADELA (2009).** "Actividad Gastrointestinal Del Fruto De *Cydonia oblonga* Miller" Departamento de Biofísica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México
26. **PEREZ GUTIERREZ ROSA MARTHA Y VARGAS SOLIS ROSARIO (2008)** "Efecto Relajante Y Antiespasmódico De Los Extractos De La Orquidea *Encyclia michuacana* En Íleon Aislado De Cobayo" J Nat Med (2009) 63:65–68.
27. **ALBA R. CAROLINA, CAMACHO ROBINSON, POLANCO MAURICIO, GÓMEZ SEBASTIÁN (2008)** "Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en íleon aislado de rata" Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia.
28. **ZAMPIROLO JÚLIO A., STULZER HELLEN K., PIAZZON MONIKA, SCHLEMPER VALFREDO, CECHINEL-FILHO VALDIR (2008)** "Actividad Antiespasmodica De *Persea cordata* Vell. Mez. (Laureaceae) En Fracciones De Íleon De Cobayo Inducida Por 5-Hidroxitriptamina Y Bradiquinina." American Journal of Pharmacology and Toxicology
29. **MEHDI BABAEI, MITRA E. ABARGHOEI, MAZIAR M. AKAHAVAN, REZA ANSARI, ABBAS A. VAFAEI, ABBAS A. TAHERIAN, SHAHROKH MOUSAVI, JABAR TOUSSY (2007)** "Efecto Antimotilico Del Extracto De Yarrow (*Achillea millefolium*) En Íleon Aislado De Cobayo." **Pakistan journal of biological science**
30. **TOSO R.E. TORIBIO M.S. MENGELLE, P. BOERIS, M.A. (2006)** "Plantas De La Provincia De La Pampa, Argentina, Con Actividad

Gastroprotectora Y Antiespasmódica” Universidad de Buenos Aires.
Facultad de Ciencias Veterinarias – Argentina.

31. **CALDAS M. PEDRO J., LAHLOUB SAAD, LEAL-CARDOSOC JOSÉ H. (2004)** “Efecto Antiespasmódico Del Aceite Esencial De *Croton Nepetaefolius* En Íleon De Cobayo: Una Actividad Miogénica” Blackwell Publishing Fundamental & Clinical Pharmacology.
32. **GRACIA M. ANA J. MARTÍNEZ T. MARÍA DEL C. MORÓN R. FRANCISCO, PINEDO ZUMILA (2001)** “Efecto Espasmolítico Del Aceite De *Piper auritum* En El Músculo Liso Intestinal” Rev. Cubana Plant Med. 2001; (1): 12-5
33. **MORÓN R. FRANCISCO MARTINEZ T. MARIA DEL C, MORÓN P. DÉBORAH (1999)** “Disminución Del Tránsito Intestinal En Ratones Por Tintura De Guayaba (*Psidium guajaba* L.) Oral”. Rev. Cubana Plant Med., 3(2):54-6.
34. **CÉSPEDES V. ALFREDO J., JOSÉ DE LA PAZ NARANJO, SEBAZCO P. CARIDAD MARTÍNEZ T. MARÍA DEL C. (1996)** “Efectos de la tintura de *Melissa officinalis* L. sobre íleon aislado y en modelo de diarreas” Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”. Laboratorio de Medicina Herbaria. Revista Cubana Medicina Militar. 1996; 25 (1).
35. **FERNÁNDEZ-CALIENES V. AYMÉ, MENDIOLA M. JUDITH, MONZOTE F. LIANET, GARCÍA P. MARLEY, SARIEGO R. IDALIA, ACUÑA R. DEYANIRA, SCULL L. RAMÓN Y GUTIÉRREZ G. YAMILET (2009)** “Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L.” Instituto De Medicina Tropical “PEDRO KOURÍ” Instituto de Farmacia Y Alimentos Revista Cubana Medicina Tropical 2009;61 (3):254-8.
36. **BRUNETON, Jean (1991)**, “Elementos de Fitoquímica y farmacognosia”, Editorial Acribia, Zaragoza España.
37. **NUÑEZ FERNANDO (2002)**, “Plantas Medicinales y Aromáticas”, 5º edición, Editorial Mundi-Prensa.
38. **PALACIOS VACCARIO JULIO (1993)**, “Plantas Medicinales Nativas del Perú I”, CONCYTEC, Lima Perú.

39. **UNIVERSIDAD DE LIMA. (1994).** Catálogo de Plantas Medicinales. Facultad de Ingeniería Industrial. (CIP). Perú
40. **CÁCERES A. (1995).** Plantas medicinales. Ed. Labor. Barcelona – España.
41. **EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2008)** 6th ed. Wormwood – Absinthii herba. Council of Europe 01/2008:1380.
42. **ALOSNO JR. (1998).** “Tratado de Fitomedicina Bases Clínicas y Farmacológicas”. Ed. ISIS ediciones SRL. Buenos Aires – Argentina.
43. **GANONG WILLIAM F. (2004).** “Fisiología Médica”. 19ª edición editorial El Manual Moderno México D.F – Santafé de Bogotá.
44. **SEGAL GH, PETRAS RE. SMALL INTESTINE (1992).** En: “Histology for Pathologists”. Stephen S. Sternberg. Raven Press. New York.
45. **GUYTON ARTHUR (1994).** Fisiología y Fisiopatología. Quinta edición. Editorial Mc Graw Hill. México 1994.
46. **BERNE, R., LEVY, M. (1995)** “Fisiología”. Mosby/Doyma Libros. Madrid, España pp. 352-367.
47. **MALGOR L. – VALSECIA M. (2005)** “Farmacología Médica volumen I Farmacología General y del Sistema Nervioso Autónomo”. Argentina.
48. **CHARLES D. CICCONE, PT, PHD (2007),** “Farmacología en rehabilitación” 4th Edición F. A. Davis Company.
49. **MINSA (2008):** “Formulario Nacional De Medicamentos Esenciales Ministerio” de Salud. Perú.
50. **GOODMAN Y GILMAN (1998),** “Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica”, Novena Edición, editorial Mc Graw – Hill interamericana México.
51. **MORON R. FRANCISCO J., LEVY R. MAYRA, ET. AL. (2002)** “Farmacología General” Editorial Ciencias Medicas, La Habana-Cuba.
52. **SLEISENGER, FELDMAN, FRIEDMAN. (2004)** “Enfermedades Gastrointestinales y Hepáticas. Fisiología Diagnóstico y Tratamiento” séptima edición. Editorial Médica Panamericana Argentina.
53. **RUBIN EMANUEL (1990)** “Patología” Liebermed Verlag S.A. Edit. Médica Panamericana S.A. España.

54. **SÁNCHEZ TURRIÓN V. (2000)** "Dolor abdominal". En: Moya Mir MS. Guías de actuación en urgencias. 2ª ed. McGraw-Hill-Interamericana de España.
55. **ANDREOLI TE, CARPENTER CJ, PLUM F, SMITH LH, BASS NM. CECIL (1990)**, "Compendio de Medicina Interna". Madrid. McGraw-Hill.
56. **CAPASSO A. , PINTO A., SORRENTINO R., CAPASSO F. (1991)** " Efecto inhibitorio de la Quercetina y otros Flavonoides en contracciones inducidas eléctricamente en íleon Aislado de Cobayo" *Journal of Ethnopharmacology* 34: 279-281
57. **VILLAR DEL FRESNO ANGEL (1999)** "Farmacognosia General", editorial síntesis S. A. España.
58. **VIT P, CORAO G. (2004)** "*Punica granatum* L. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela", N°. 9 Granada. Rev. Facult. Farmac. Vol. 46 No2 p 41-44
59. **LANSKY E., NEWMAN R. (2007)** "*Punica granatum* (Granada) y su potencial en la prevencion y tratamiento de la inflamacion y el cáncer" *Journal of Ethnopharmacology* 109 177–206.
60. **EXPERIMENTO SOBRE ÓRGANO AISLADO**
 a. http://www.geocities.com/pharmacology_unal/OrgAislado.html
61. **PANLAB TECHNOLOGY BIORESEARCH**
<http://www.panlab.com/panlabWeb/Hardware/php/displayHard.php?nameHard=COMPACT ORGAN BATHS>
62. **POWERLAB ® , MACLAB ® AND LABTUTOR ® (2007)** "Chart 5 for Windows User's Guide" ADInstruments Pty Ltd Bella Vista, Australia
63. **DICCIONARIO MÉDICO**. Clinica Universidad de Navarra, Facultad de medicina de la Universidad de Navarra – España 2008
64. **MOSBY (2003)**, "Diccionario Mosby de Medicina, Enfermería y Ciencias de la Salud" 6º edición. España.
65. **DICCIONARIO MÉDICO 4TA EDICIÓN EDITORIAL MASSON BARCELONA - ESPAÑA 2005**
66. **SÁNCHEZ- MATEO CC, PRADO B, RABANAL RM (2002)** antidepressant effects of the metanol extract of several *Hypericum*

- species from the Canary Island. *Journal of Ethnopharmacology*. 79(1): 119-127.
67. **VILLENA T. MAGALY (2003)** "Cátedra de Farmacobotánica de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica UNSAAC". Cusco – Perú.
68. **GUZMAN R. FELICITAS Y., TORRES V. LISBET Y. (2010)** "Determinación del efecto repente, evaluación de la toxicidad aguda y elaboración de una forma farmacéutica a base del aceite esencial de *Satureja boliviana* (muña)" Universidad San Antonio Abad del Cusco.
69. **AKAH, P.A., GAMANIEL, K.S., WAMBEBE, C.N., SHITTU, A., KAPU, S.D., KUNLE, O.O. (1997)** "Studies on the gastrointestinal properties of *Ficus exasperate*" *Fitoterapia* LXVIII: 17-20
70. **HERNÁNDEZ PEREZ M., SANCHEZ MATEO C. C., DARIAS V., RABANAL R.N. (1995)** "Efectos de los extractos de *Visnea mocanera* en el tiempo de sangrado, tránsito intestinal y diuresis en roedores" *Journal of Ethnopharmacology* 84: 115-119.
71. **BAFNA, P., BODHANKAR, S. (2003)** "Gastrointestinal effects of Mebarid®, an ayurvedic formulation, in experimental animals". *Journal of Ethnopharmacology* 86:173-176.
72. **GILANI, A.H., AZIZ, N., KHURRAM, I.M., RAO, Z.A., ALI, N.K. (2000)** "The presence of cholinomimetic and calcium channel antagonist constituents in *Piper betle* Linn". *Phytotherapy Research* 14: 436-42.
73. **DAR, A., CHANNA, S. (1999)** "Calcium antagonistic activity of *Bacopa monniera* on vascular and intestinal smooth muscles of rabbit and guinea-pig". *Journal of Ethnopharmacology* 66: 167-174.
74. **PASCUAL G., RIASCOS D., HOLGUÍN E., ACEROS H., VELASQUEZ S. (1999)** "Guía para la realización del informe del Laboratorio de Intestino Aislado de Rata". Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana Colombia.
75. **CHERBUT C., AUBÉ A., BLOTTIERE H., PACAUD P., SCARPIGNATO C., GALMICHE J. (1996)** "In vitro Contractile Effects

of Short Chain Fatty Acids in the Rat Terminal Ileum” laboratory of Physiology, University of Bordeaux. Vol 38. Pag. 53 – 58. Francia.

76. **MERMA L. ROSMERY (2010)** Determinación de la actividad hepatoprotectora y antilipoperoxidante in vivo e in vitro del extracto hidroalcohólico seco al 70% de las hojas de *Vallea stipularis* (Chuillur) Universidad Nadcional San Antonio Abad del Cusco
77. **ACURIO G. LISBETH K., GUILLEN C. WARREN M. (2005)** “Actividad coagulante, hemostatica y toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Lepidium chichicara* (Desvaux) chichira” Universidad San Antonio Abad del Cusco
78. **HÄNSEL R & STICHER O (2007).** “Pharmakognosie – Phytopharmazie”. 8. Aufl.; Heidelberg; Springer Medizin Verlag
79. **HAGERROM (2006)** “Absinthii herba”. Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe. Springer Medizin Verlag, Heidelberg
80. **TOSI B, BONORA A, DALL’OLIO G ET AL. (1991).** “Screening for toxic thiophene compounds from crude drugs of the family Compositae used in Northern Italy”. *Phytother Res* 5(2): 59-62
81. **CANADANOVIC-BRUNET JM, DJILAS SM, CETKOVIC GS ET AL. (2005).** “Free radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) extracts”. *J Sci Food Agric* 85: 265-272
82. **PHYSICAL PROPERTIES OF SOME SPICE ESSENTIAL OILS AND FLAVOURANTS** http://www.indianspices.com/pdf/phys_prop.pdf

ANEXOS

ANEXO 1

IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA PLANTA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- APARTADO POSTAL
N° 021 - Cusco - Perú
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- RECTORADO
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 234398
- CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 -
222512 - 232370 - 232375 - 232226
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- MUSEO INKA
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

LA QUE SUSCRIBE DIRECTORA DEL HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICA

Que, las Bachilleres: **PATRICIA QUISPE QUISPE** y **SUSAN MÉRIDA ACHAHUI VILCA** de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica Facultad de Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; han presentado al Herbario Vargas (CUZ) una muestra botánica herborizada para su determinación.

Dicho material ha sido sometido a una diagnosis en base a claves taxonómicas, análisis morfológico, filogenético y en comparación con las muestras existentes en el herbario de la que se desprende que el material analizado corresponde a la especie *Artemisia absinthium* L. Siendo su posición taxonómica de acuerdo al Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist (1981)

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Asteridae
Orden	:	Asterales
Familia	:	Asteraceae
Género	:	<i>Artemisia</i>
Especie	:	<i>Artemisia absinthium</i> L.
N. vulgar	:	Ajenjo

Se le expide, el presente certificado de identificación de la especie para los fines que vieran por conveniente

Cusco, 9 de Febrero de 2011

Arch/HV CUZ



Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco
Herbario Vargas (CUZ)

M. Sc. Fructuosa De La Torre Mayorga
Directora

ANEXO 2

CERTIFICADO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION (RATONES ALBINOS)



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 222-2010

Produce	: Ratón albino	Lote N°	: M - 40 - 2010
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 60
Cepa	: Balb/c CNPB	Edad	: 30 a 34 días
Peso	: 20 a 24 g	Sexo	: Machos
Boleta de Venta N°	: 004-12984	G.R. 022306	Destino : Patricia Quispe Quispe Cuzco
Fecha	: 28-09-10		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia: P.R.T.-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 28 de Setiembre del 2010
(Fecha de emisión del certificado)


M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1588

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

ANEXO 3

CERTIFICADO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN (COBAYOS ALBINOS)



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS

COORDINACIÓN DE GRANJA DE PRODUCCIÓN DE
ANIMALES DE LABORATORIO Y PROD. AGRIC.

CERTIFICADO SANITARIO

Nº : P-016-2010

Producto	:Cobayo Tipo Hartley	Sexo	:Machos/Hembras
Especie	: <u>Cavia porcellus</u>	Peso	: 300-400 gr
Destino	CUSCO	Edad	: 2 mes.
Lote	:C-09-2010	Cantidad	: 24

Guía de
Remisión Nº : 022586

Fecha : 15 de Noviembre del 2010

El *Médico Veterinario* que suscribe el presente certificado **Ricardo R. Rivera Rodríguez**; encargado de la Coordinación de "*Granja de Producción de Animales de Laboratorio*" **CERTIFICA** que, los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias y libre de enfermedades infecto-contagiosas.*

*Según PRT-CNPB-223-GRA"Control Sanitario de la Granja de Producción de Animales de Laboratorio"

NOTA: La Granja de Producción de Animales de Laboratorio no se hace responsable por el manejo que reciben los animales y/o insumos diversos una vez que estos egresan de la misma.

.....
M.V. Ricardo R. Rivera Rodríguez
CMVP Nº 5625
Coord. "*Granja de Producción de Animales de Laboratorio y Producción Agrícola*"
DEPIV-CNPB/INS

ANEXO 4

CONSTANCIA DE USO DEL LABORATORIO



Universidad Católica de Santa María

(5154)251210 • (5154)251213 • ucs@ucs.edu.pe • <http://www.ucs.edu.pe> • Aptdo. 1350
AREQUIPA - PERÚ

CONSTANCIA

No.0010

EL QUE SUSCRIBE COORDINADOR DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, DEJA CONSTANCIA QUE:

LAS SEÑORITAS SUSAN MERIDA ACHAHUI VILCA PATRICIA QUISPE QUISPE, EGRESADAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS, MATEMÁTICAS, FARMACIA E INFORMÁTICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO, HA DESARROLLADO SU TRABAJO DE INVESTIGACIÓN TITULADO "EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. (Ajenjo) IN VIVO Y EX VIVO" EN LO REFERENTE AL EFECTO ANTIESPASMÓDICO EX VIVO UTILIZANDO EL EQUIPO DE ÓRGANOS AISLADOS EN EL LABORATORIO H-203 DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA, EN EL PERIODO DEL 16 DE NOVIEMBRE AL 2 DE DICIEMBRE.

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A SOLICITUD DE LAS INTERESADAS, Y PARA LOS FINES QUE CONVenga.

Arequipa, 2010-12-03

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
Paula Carpio
COORDINADORA DE LABORATORIOS

ANEXO 5

CONSTANCIA DE COASESORIA

Universidad Católica de Santa María
Escuela de Postgrado
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas

Cátedra CONCYTEC

Q1
Química Ambiental

Caracas, 02 de 12
C.A. Universidad Católica
Calle 15M, #3340 - 770
Telf: +58 28 21210 ext 1132

<http://www.ucsm.edu.ve>
www.facebook.com/ucsm

Arequipa, 02 de Diciembre de 2010

Señor, Mglor,
LUCIO PAMPAN ANGULO
Decano de la Facultad de Ciencias Químicas, Físicas,
Matemáticas, Farmacia e Informática.
Presente.

Asunto: INFORME DE COASESORIA DE PROYECTO DE TESIS

De mi mayor consideración:

Es grato dirigirme a Ud. para saludarlo atentamente e informarlo sobre la ejecución de la tesis del que soy coasesor iniciada: "EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia subulnaria* L. (Ajenjo) IN VIVO Y EX VIVO". Que fue realizado por las señoritas bachilleros SUSAN MÉRIDA ACHAHLI VILCA y PATRICIA QUISEP QUISEP, egresadas de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco, para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Debo informarle que se ha realizado en forma satisfactoria la parte experimental EX VIVO CON EL EQUIPO BAÑO DE ORGANOS AISLADOS PANLAD en el Laboratorio de Fisiología de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa (ambiente H-207) por el período comprendido del 10 de noviembre al 02 de diciembre del 2010, habiendo obtenido óptimos resultados.

Sin otro particular es propicio la oportunidad para expresarle las muestras de mi consideración personal.

Atentamente,


Dr. José A. Vasmatazén Salas, Ph.D.
Investigador Principal
Cátedra CONCYTEC - UCSM
Central 236-3080 CONCYTEC- OAJ



MS
cc: Arch.

ANEXO 6

CONSTANCIA DE INFORME DE ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. "Ajenjo"



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS, MATEMÁTICAS,
FARMACIA e INFORMÁTICA
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD - ÁREA DE CROMATOGRAFÍA

CONSTANCIA

Los que suscriben Responsables del Laboratorio de Cromatografía de la Facultad De Ciencias Químicas, Físicas, Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Dejan Constancia:

Que las Bachilleras: **SUSAN MERIDA ACHAHUI VILCA Y PATRICIA QUISPE QUISPE**, de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, han presentado al Laboratorio de Cromatografía una muestra de aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. que se caracterizó utilizando el Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N, acoplado a un Espectrómetro de Masas Agilent 5975B. La identificación se basó en la comparación de las señales del espectro de masas de cada componente con los datos compilados en la librería NIST05a (Wiley) y FLAVORS presentando los siguientes componentes mayoritarios:

TR	Area (%)	Compuesto	Coincidencia
3.745	0.13	3-tujene (α-tujene)	83
4.193	1.23	Sabineno	94
4.332	0.11	β-Mirceno	74
4.882	0.57	Ocimene	83
5.639	0.59	1,6-octadiene, 5,7-dimethyl- (Isocitronellene)	52
5.673	0.45	Linalol	72
5.838	14.52	3-tujanone (β-tujona)	94
5.977	26.57	α-Tujona	93
6.079	29.69	Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3-methoxymethylene	53
6.168	0.53	Isotujol	86
8.646	22.18	Myrtenylacetate	59
Total	96.37		

Se expide la siguiente constancia a solicitud de las interesadas para los fines que vieran por conveniente.

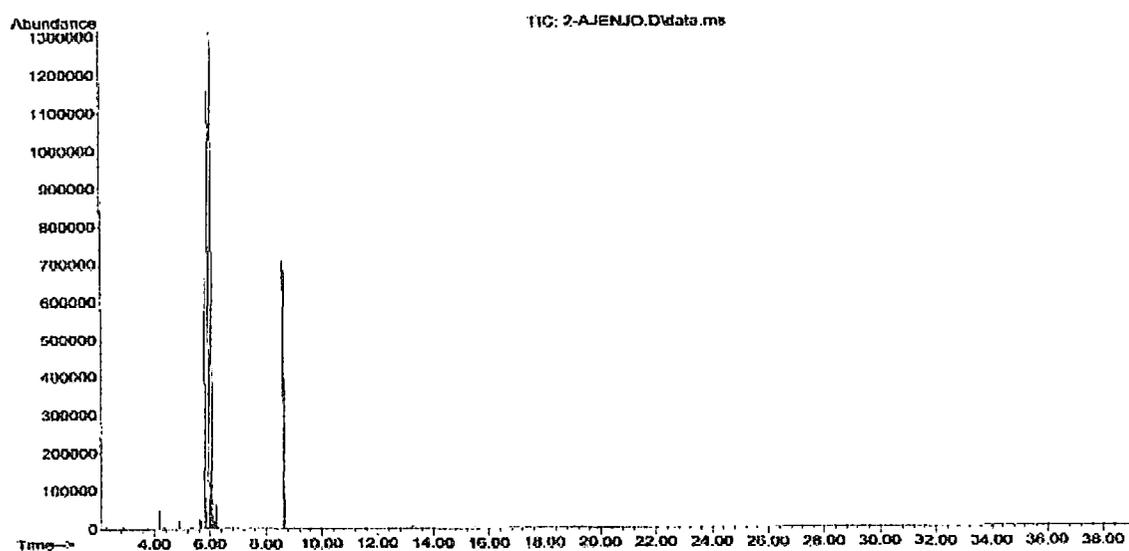
Qca. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de
Cromatografía de Gases - UNSAAC.

Cusco, 10 de Febrero del 2011.

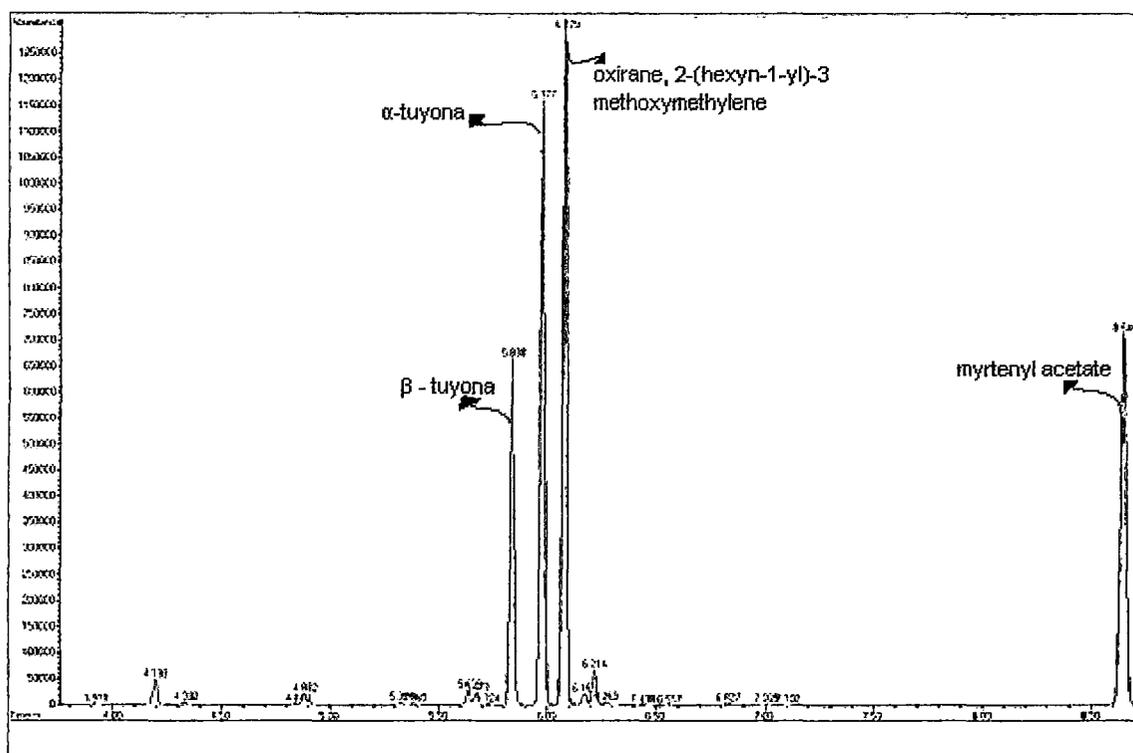
Mpt. Nancy Acostupa Quispe
Analista del Laboratorio de
Cromatografía de Gases - UNSAAC.

ANEXO 7

CROMATOGRAMA Y ESPECTROS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.



Cromatograma gas-líquido del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. (columna HP-5MS 5% phenyl methyl siloxane, (30m x 250um x 0.25um))



Cromatograma donde se muestran los tiempos de retención y los metabolitos de mayor porcentaje del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

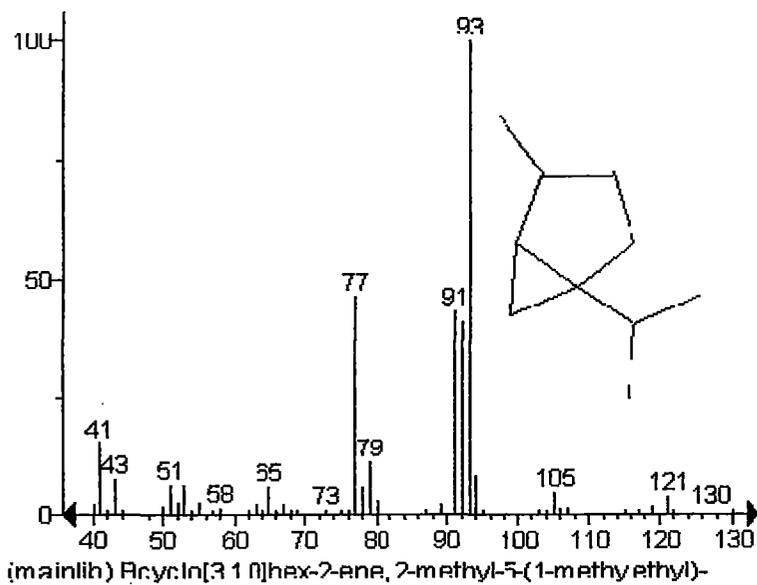
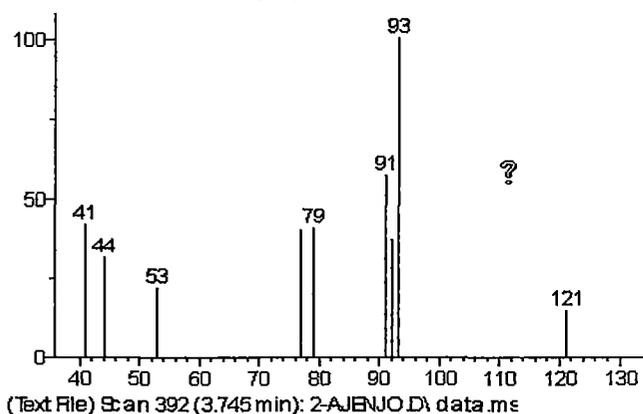
ESPECTRO DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

3-THUJENE (α -TUJENE)

Name: Scan 392 (3.745 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 27 DB: Text File

Comment: Aceite de ajeno



Name: Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 2867-05-2 NIST#: 249397 ID#: 51489 DB: mainlib

Other DBs: TSCA, HODOC, EINECS

Contributor: TNO Volatile Compounds in Food - Chemical Concepts

Synonyms:

1.3-Thujene

2.à-Thujene

3.Originene

4.5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene #

Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de
Cromatografía UNSAAC

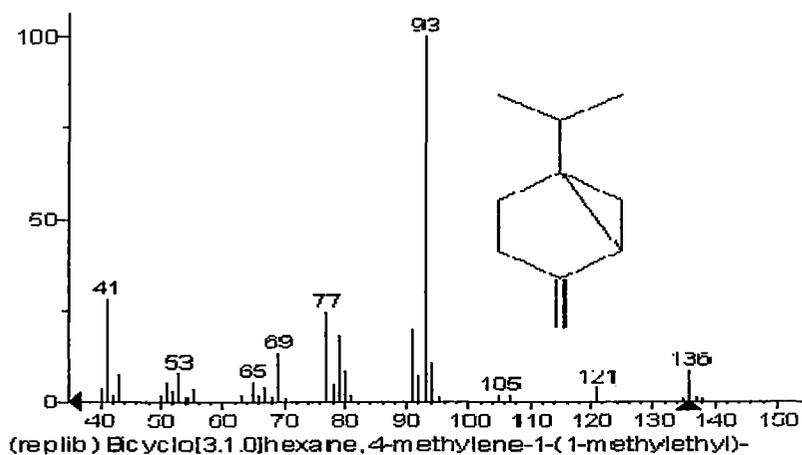
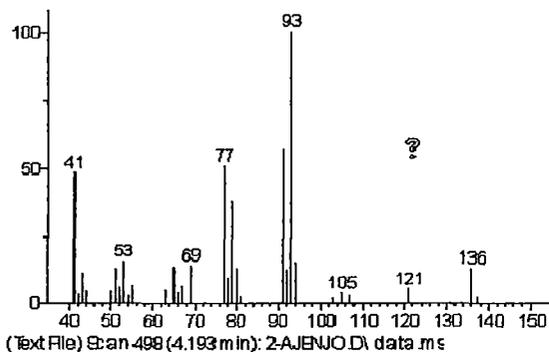
SABINENO

Name: Scan 498 (4.193 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 26 DB: Text File

Comment: Aceite Esencial de ajenjo

10 largest peaks:



Name: Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 3387-41-5 NIST#: 34194 ID#: 11950 DB: replib

Other DBs: Fine, NIH, EINECS

Contributor: W. UTILIZATION R & D DIV., U.S. DEPT. OF AGRIC., ALBANY, CAL.

Synonyms:

- 1.4(10)-Thujene
- 2.Sabinen
- 3.Sabinene
- 4.(+)-Sabinene
- 5.Thujene, 4(10)-
- 6.1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane
- 7.Sabenene

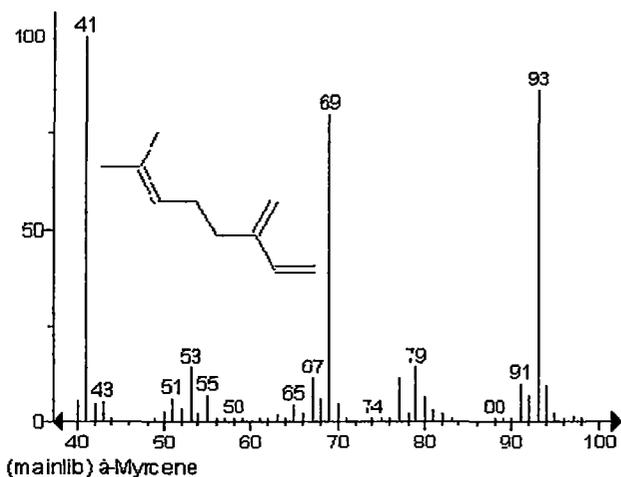
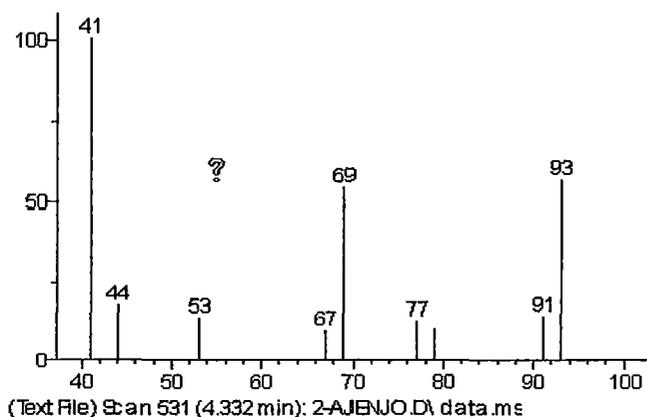
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

β -MIRCENO

Name: Scan 531 (4.332 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 28 DB: Text File

Comment: Aceite de ajeno



Name: α -Myrcene

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 123-35-3 NIST#: 3301 ID#: 3407 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS, IRDB

Synonyms:

- 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-
- Myrcene
- 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene
- 7-Methyl-3-methyleneoctadiene-(1,6)
- 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene
- 3-Methylene-7-methyl-1,6-octadiene
- b-Geraniolene
- b-Myrcene
- 7-Methyl-3-methylene-octa-1,6-diene

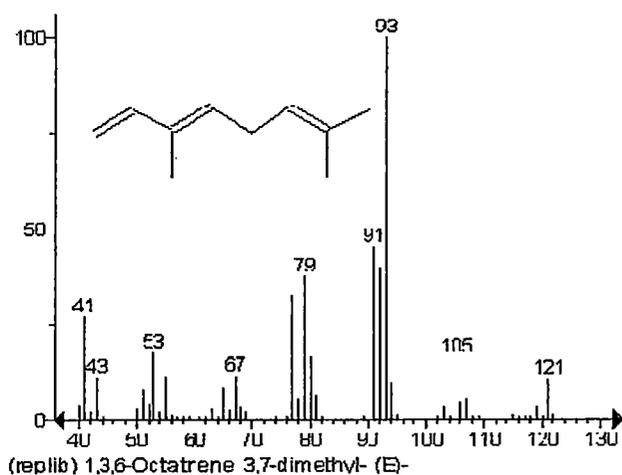
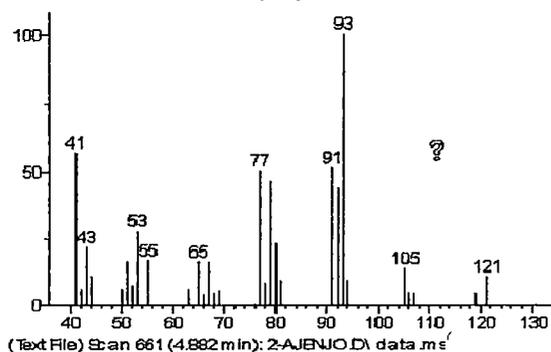
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

OCIMENE

Name: Scan 661 (4.882 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 29 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



Name: 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 CAS#: 3779-61-1 NIST#: 292001 ID#: 12052 DB: replib

Other DBs: HODOC, EINECS

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1998.

Synonyms:

1. β -trans-Ocimene
2. trans- β -Ocimene
3. trans-3,7-Dimethyl-1,3,6-Octatriene
4. Ocimene, trans- β -
5. (E)-Ocimene
6. trans-Ocimene
7. β -Ocimene, E;-
8. (3E)-3,7-Dimethyl-1,3,6-octatriene#

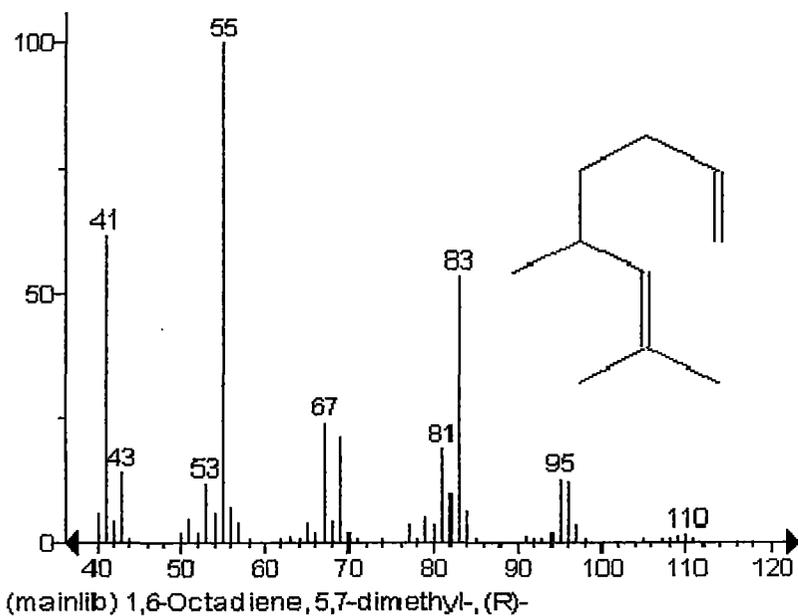
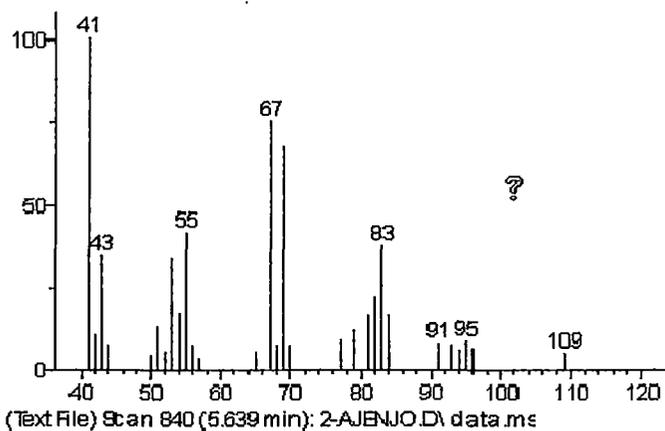
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

1,6- OCTADIENE, 5,7 –DIMETHYL (ISOCITRONELLENE)

Name: Scan 840 (5.639 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 30 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



Name: 1,6-Octadiene, 5,7-dimethyl-, (R)-

Formula: C₁₀H₁₈

MW: 138 CAS#: 85006-04-8 NIST#: 162828 ID#: 16852 DB: mainlib

Other DBs: EINECS

Contributor: Chemical Concepts

Synonyms:

1.R(+),5,7-Dimethyl-1,6-octadiene

2.5,7-Dimethyl-1,6-octadiene #

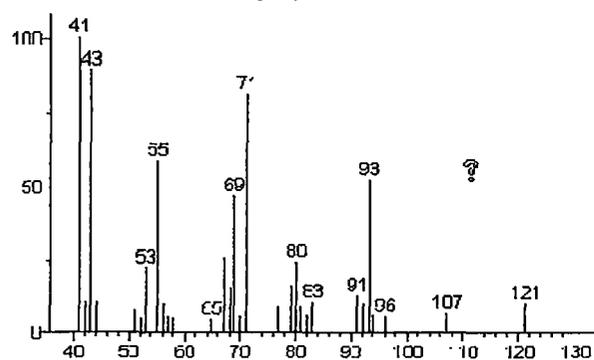
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de
Cromatografía UNSAAC

LINALOL

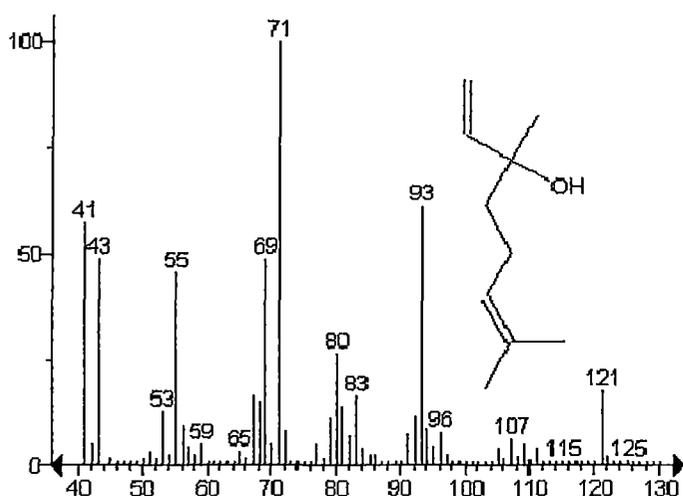
Name: Scan 848 (5.673 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 32 DB: Text File

Comment: Aceite de ajeno



(Text File) Scan 848 (5.673 min): 2-AJENJO.D\data.ms



(rep lib) 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-

Name: 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 CAS#: 78-70-6

NIST#: 43962 ID#: 8161 DB:

replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, NIH, EINECS, IRDB

Contributor:

G.BRAMMER, UNIVERSITY OF TEXAS

Synonyms:

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. β -Linalool | 11. 3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol |
| 2. Linalol | 12. Linolool |
| 3. Linalyl alcohol | 13. b-Linalool |
| 4. 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol | 14. Linanool |
| 5. allo-Ocimenol | 15. 3,7-Dimethyl-octa-1,6-dien-3-ol |
| 6. p-Linalool | 16. dl-3,7-Dimethyl-3-hydroxy-1,6-octadiene |
| 7. Linolool (d) | 17. Linalool ex bois de rose oil |
| 8. 2,6-Dimethyl-2,7-octadiene-6-ol | 18. Linalool ex ho oil |
| 9. 2,6-Dimethylocta-2,7-dien-6-ol | 19. Linalool ex orange oil |
| 10. 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol | 20. Phantol |
| | 21. Linaloyl oxide |

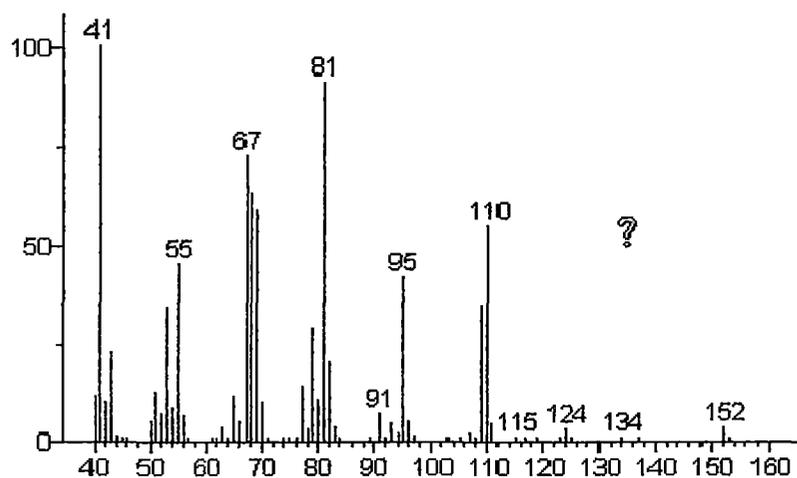
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

3-THUJANONE (β -TUYONA)

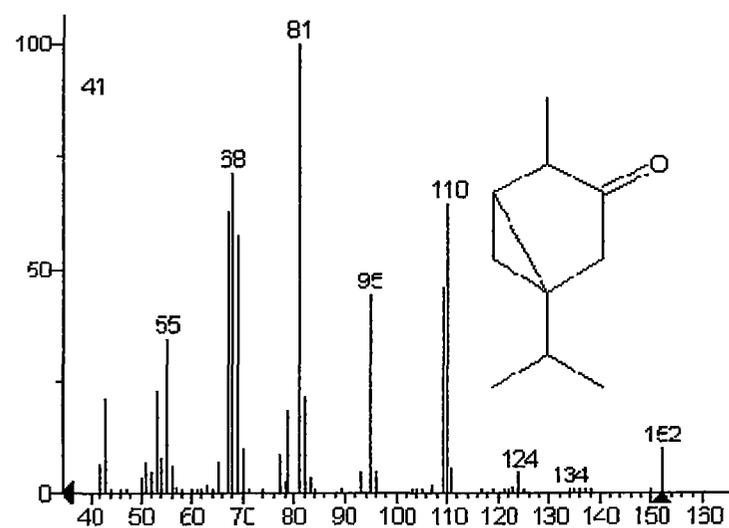
Name: Scan 887 (5.838 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 33 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



(Text File) Scan 887 (5.838 min): 2-AJENJO.D\data.ms



(mainlib) Bicyclo[3.1.0]hexan-3-one, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-

Name:

Bicyclo[3.1.0]hexan-3-one, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₆O

MW: 152 CAS#: 1125-

12-8 NIST#: 266112 ID#:

39386 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, NIH, EINECS

Contributor: A.A.Kutin, Moscow, Russia

Synonyms:

1. 3-Thujanone
2. Chrysanthone
3. Tanacetone
4. 1-Isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexan-3-one
5. (-)-Thujone
6. Thujan-3-one

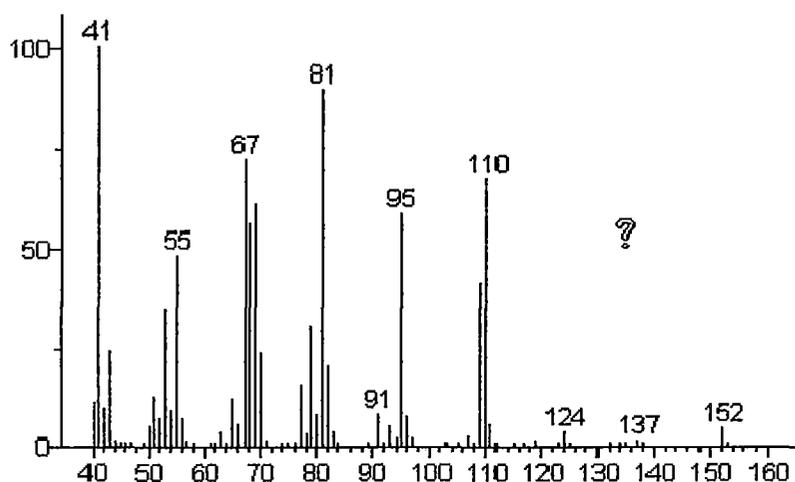
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

α -TUYONA

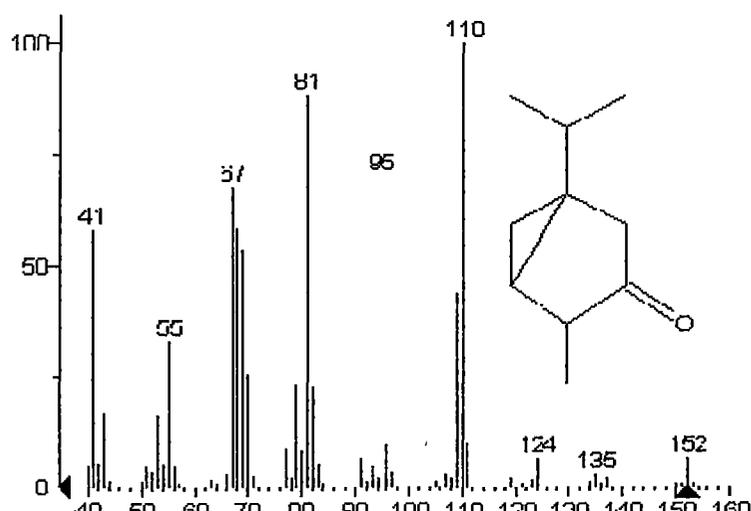
Name: Scan 920 (5.977 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 34 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



(Text File) Scan 920 (5.977 min): 2-AJENJO.D\data.ms



(mainlib) Thujone

Name: Thujone
Formula: C₁₀H₁₆O
MW: 152 CAS#: 546-80-5 NIST#: 77604 ID#: 66321 DB: mainlib
Other DBs: TSCA, RTECS, NIH, EINECS
Contributor: RESEARCH LABORATORY, STATE ALCOHOL MONOPOLY ALKO, HELSINKI, FINLAND; IRMA NYKANEN ET AL

Synonyms:

1. Bicyclo[3.1.0]hexan-3-one, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1à,4à,5à)]-
2. 3-Thujanone, (1S,4R,5R)-(-)-
3. α -Thujone
4. α -Thujone, (-)-
5. (-)-3-Isothujone
6. Isothujone, (-)-
7. Thujon
8. 3-Thujanone, (-)-
9. l-Thujone
10. 4-Methyl-1-(1-methylethyl)bicyclo[3.1.0]hexan-3-one
11. 6-Ketosabinane
12. Tanacetone
13. 1-Isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexan-3-one #

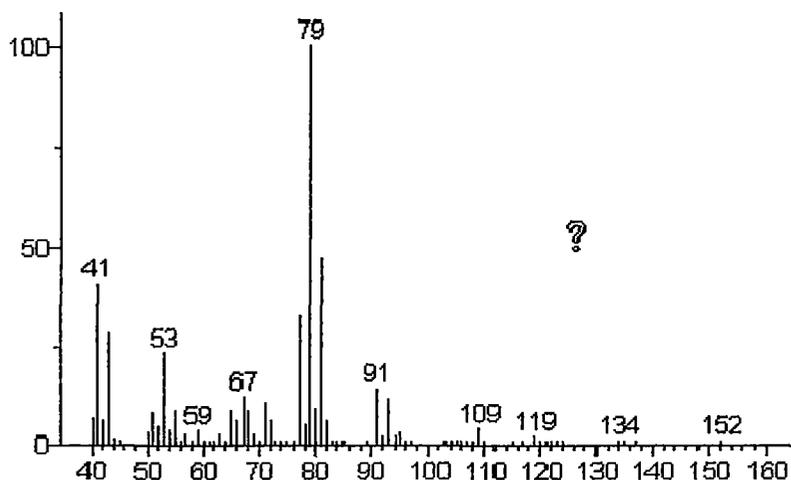
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

OXIRANE, 2-(HEXYN-1-YL)-3 METHOXYMETHYLENE

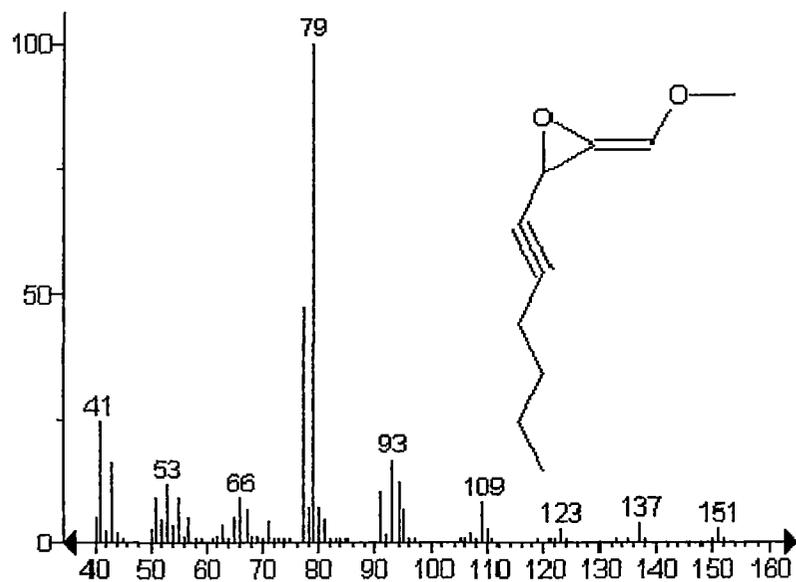
Name: Scan 944 (6.079 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 35 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



(Text File) Scan 944 (6.079 min): 2-AJENJO.D\data.ms



(mainlib) Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3-methoxymethylene-

Name: Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3-methoxymethylene-

Formula: C₁₀H₁₄O₂

MW: 166 NIST#: 261519 ID#: 38462 DB: mainlib

Contributor: A.A.Kutin, Moscow, Russia

Synonyms:

no synonyms.

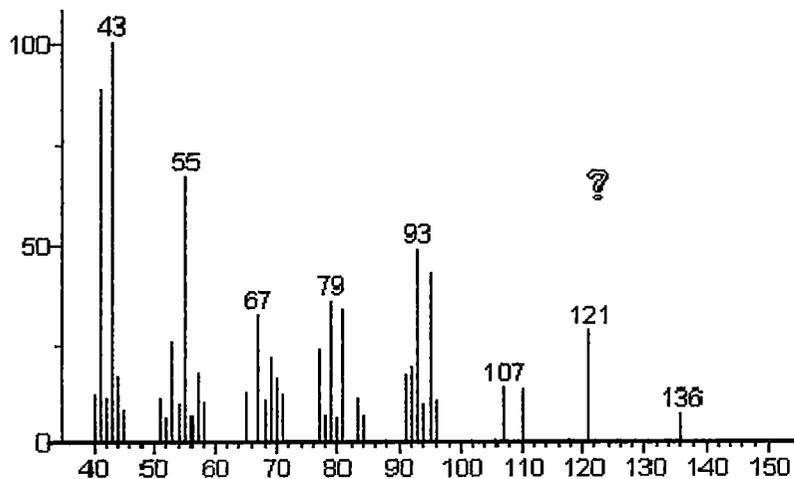
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

ISOTHUJOL

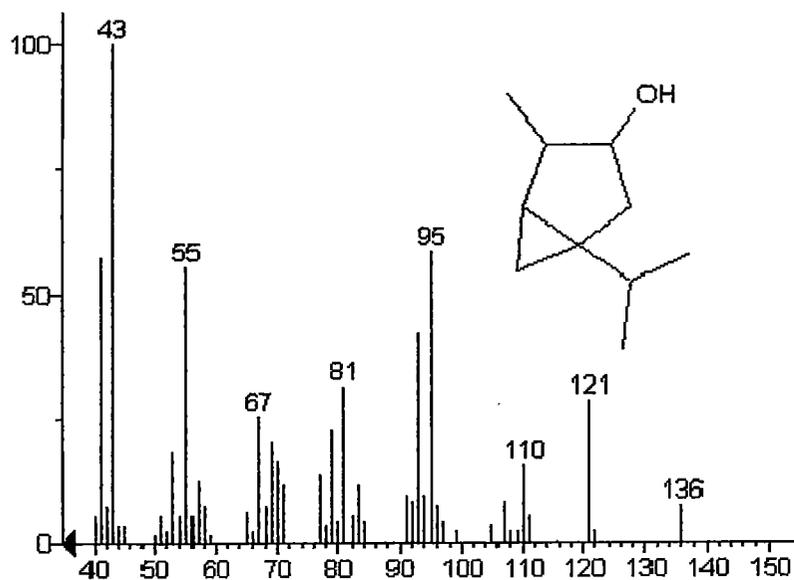
Name: Scan 965 (6.168 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 36 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



(Text File) Scan 965 (6.168 min): 2-AJENJO.D\data.ms



(replib) Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-

Name: Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 CAS#: 513-23-5 NIST#: 21601 ID#: 2717 DB: replib

Other DBs: HODOC

Synonyms:

1. Isothujol

2. 1-Isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexan-3-ol #

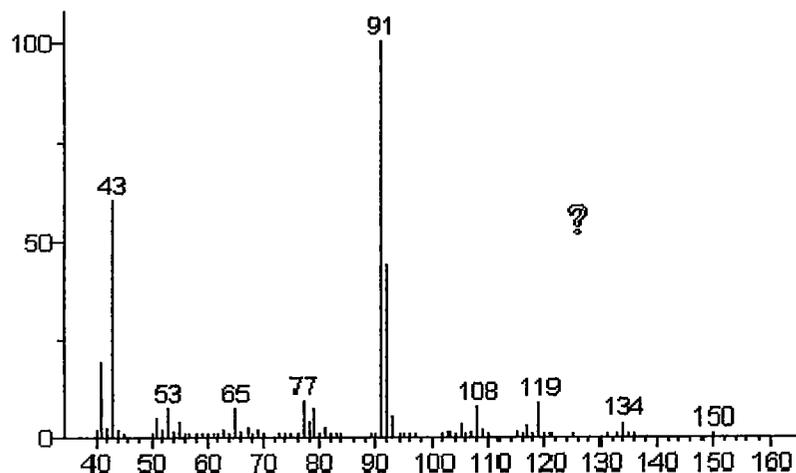
Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

MYRTENYL ACETATE

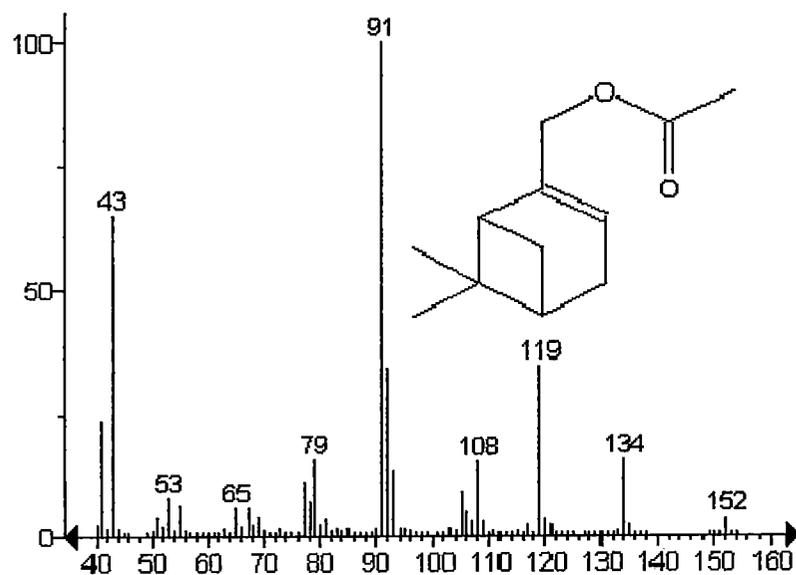
Name: Scan 1551 (8.646 min): 2-AJENJO.D\data.ms

MW: N/A ID#: 37 DB: Text File

Comment: Aceite de ajenjo



(Text File) S:an 1551 (8.646 min): 2-AJENJO.D\data.ms



(mainlib) (-)-Myrtenyl acetate

Name: (-)-Myrtenyl acetate

Formula: C₁₂H₁₈O₂

MW: 194 NIST#: 149856 ID#: 46262 DB: mainlib

Contributor: Chemical Concepts

Synonyms:

no synonyms.

Fuente: Reporte del Laboratorio de Control de Calidad – Área de Cromatografía UNSAAC

**ANEXO N°8:
COMPARACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L DE DIFERENTES ORIGENES**

Compuesto	AREA (%)																								
	Cusco	Moldova ³	Latvia ³	Lituania ³	Italia ³	Italia [7] ³	Italia [7] ³	Italia [7] ³	España ³	Alemania ³	Grecia ³	Ukrania ³	Escocia ³	Armenia ³	Grecia ⁴	Estonia1 ³	Estonia2 ³	Estonia3 ³	Estonia4 ³	Estonia5 ³	Francia ³	Francia[7] ³	Francia[7] ³	Hungaria ³	
3-thujene (α-tujene)	0.13																								
Sabineno	1.23	9.2	3.4	2.7	0.2	4.0	6.3	2.2	Tr.	0.6	3.0	5.1	30.1	0.9		21.2	1.4	25.3	3.5	1.7	3.6	2.7	0.8	18.1	
β -Mirceno	0.11	38.9	2.8	2.5	0.1	3.2	1.4	2.1	0.1	0.3	2.9	5.9	18.0	2.2		25.6	0.2	29.9	0.8	0.2	5	0.8	0.5	17.7	
Ocimene	0.57																								
1,6- octadiene, 5,7 - dimethyl(isocitronellene)	0.59																								
Linalol	0.45																								
3-thujanone (β-tuyona)	14.32	0.4	6.2	4.6	12.3	-	40.6	5.2	6.2	0.4	38.7	6.3	3.5	3.1		4.1	1.3	0.1	64.6	2.3	2.0	0.4	0.7	4.5	
Thujone (α-Tuyona)	26.57																								
Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)- 3 methoxymethylene	29.69																								
Isothujol	0.53																								
Myrtenyl acetate	22.18																								
1,8 cineol		0.1	4.1	3.6	0.3	0.2	0.3	0.1	18.0	3.4	0.3	0.2	0.2	0.4		0.6	0.1	0.4	0.4	0.3	0.8		0.2		
Linalol+α-thuyone		3.0	0.6	4.1	1.9	0.6	2.2	1.1	10.9	1.1	4.5	5.4	5.0	6.1		1.7	1.1	3.4	2.4	2.5	10.3	1.8	0.8	4.2	
Epoxicimenes		0.6	23.6	1.1	3.6	56.6	23.1	33.7	1.3	1.3	0.8	0.4	0.8	0.4		1.3	59.7	1.4	0.2	0.7	0.4	48.9	0.1	3.0	
Sabinyl acetate		5.7	9.0	13.7	11.4	-	0.9	11.5	0.2	0.2	0.9	4.9	0.2	34.2		0.4	23.6	0.2	18.2	70.5	0.3	-	84.5	-	
Cucurmenes structures		2.4	9.0	6.3	7.1	0.4	-	0.3	1.4	1.4	3.0	7.8	2.1	5.7		5.5	0.1	2.7	0.1	0.3	11.3	-	0.3	2.6	
Neryl butanoate		2.0	0.6	0.5	2.4	0.3	1.0	0.9	0.1	0.1	2.5	3.8	0.5	1.8		0.8	0.5	2.5	0.1	1.4	13.9	1	0.2	3.3	
Neryl-3-methyl butanoate		3.0	4.7	4.1	2.6	0.3	1.2	0.7	5.9	5.9	3.7	7.3	1.7	3.5		0.4	0.9	0.9	0.5	0.4	7.3	1.0	0.2	2.0	
Oxido de Cariofileno															25.3										
p-Cineno															16.8										
Acetato de lanceol															7.3										
Chamazuleno															2.9										
β-Selineno															1.8										

**COMPARACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE
Artemisia absinthium L DE DIFERENTES ORIGENES**

Compuesto	AREA (%)									
	Cusco	Teruel ¹	Erzurum ²	Francia ⁷	Hungaria ³	Bélgica ³	Rusia ³	Siberia ³	Siberia ¹	Siberia ¹
3-thujene (α -tujene)	0.13									
Sabineno	1.23	0,11	2,9	0,8	18,1	9,3	9,3	0,4	1,4	
β -Mirceno	0.11	0,05		0,5	17,7	5,4	0,8	2,1	3,6	
Ocimene	0.57									
1,6- octadiene, 5,7 -dimethyl(Isocitronellene)	0.59									
Linalol	0.45	3,16								
3-thujanone (β -tuyona)	14.32	0,19		0,7	4,5	3,5	1,7	0,6	7,6	
Thujone (α -Tuyona)	26.57									
Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3 methoxymethylene	29.69									
Isothujol	0.53									
Myrtenyl acetate	22.18									
α -pineno		0,31								
Limoneno		0,02								
Cis-Ocimeno		0,08								
Terpinoleno		0,01								
Cis-epoxiocimeno		25,64								
Trans-epoxiocimeno		0,89								
Cis-crisantenol		2,37								
α -bisabolol		0,19								
Acetato de crisantenilo		58,13								
(Z)-3-butanoato de hexenilo		0,7								
Globulol		0,5								
Oxido de linalool		0,12								
1,8 cineol			1,5	0,2	0,5	3,9	0,6	-	0,2	
Camfor			1,4							
Borneol			0,6							
Terpinen-4-ol			1,8							
p-Cymen-8-ol			1,7							
A-Terpinol			2,4							
Piperitone			0,1							
Bornyl acetate			0,3							
β -Selinene			2,0							
Geranyl isobutyrate			2,3							
(Z)-sesquisabinenehydrate			2,7							
Geranyl n-butyrate			1,7							
Spathulenol			1,8							
Caryophyllene oxide			4,3							
Cubenol			0,1							
β -Eusdemol			1,1							
Chamazulene			17,8							
Nuciferol propionato			5,1							
Nuciferol butanoate			8,2							
Linalol+ α -thuyone				0,8	4,2	3,8	1,9	2,7	12,7	
Epoxycimenes				0,1	3,0	0,5	22,1	-	1,8	
Sabinyl acetate				84,5	-	18,6	Tr.	31,5	7,9	
Cucurmenes structures				0,3	2,6	1,1	2,9	1,7	1,0	
Neryl butanoate				0,2	3,3	2,9	4,9	7,9	7,0	
Neryl-3-methyl butanoate				0,2	2,0	1,5	5,5	9,1	6,6	

1 Juan A. Llorens Molina · Vicente Castell Zeising · Rafael Pascual Ramírez "Composición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. procedente del término municipal de Calamocha (Teruel). Caracterización de su quimiotipo y estudio de las variaciones estacionales"(62)

2 Saban Kordali, İrhan Asfan, Onder Çalmasura, Ahmet Cakir (2006) "TOXICITY OF ESSENTIAL OILS ISOLATED FROM THREE *Artemisia* SPECIES AND SOME OF THEIR MAJOR COMPONENTS TO GRANARY WEEVIL, *Sitophilus granarius* (L.) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) (70)

3 Anne Orava*, Ain Raalb, Elmar Arakb, Mati Müüriseppa, and Tiiu Kailasa (2005) "Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin" (40)

4 Basta A., Tzakou O., Couladis M., Pavlovic M. (2007) "COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA *Artemisia absinthium* L. DE GRECIA" Journal of essential oil research, Grecia.(42)

ANEXO N° 9

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA DE <i>Artemisa absinthium</i> L. "AJENJO"					
MÉTODO: DISMINUCIÓN DEL TRANSITO INTESTINAL EN RATONES ALBINOS					
Sustancia a Evaluar:					
Grupo (....) : (.....)Dosis a evaluar del.....					
Animal de Experimentación	P	D	A	B	C
Ratón 1					
Ratón 2					
Ratón 3					
Ratón 4					
Ratón 5					
Ratón 6					
Donde:					
P: Peso de los ratones en gramos (g). D: Cantidad de carbón activado. A: Distancia total del intestino (cm). B: distancia recorrida del marcador (carbón activado) (cm). C: %avance del marcador $(B/A) \times 100$					

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 10

FICHA DE PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO/ACEITE ESENCIAL DE <i>Artemisia abinthium</i> L.	
SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Éter etílico	
Éter de petróleo	
Hexano	
Bencina	
Cloroformo	
Acetona	
Acetato de etilo	
Etanol 96°	
Etanol 80°	
Etanol 70°	
Agua	

La interpretación de la solubilidad será como muestra el siguiente cuadro:

SIGNOS	SIGNIFICADO
+++	Muy soluble
++	Soluble
+	Poco soluble
-	Insoluble

Fuente: elaboración propia

ANEXO N° 11

PRUEBAS DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

1. AZÚCARES REDUCTORES

Prueba de Benedict: A 0,5 mL de solución de extracto, agregar 0,2 mL del reactivo de Benedict, calentar en baño de agua a ebullición. Precipitado de color rojo ladrillo, indica prueba positiva.

2. GLICÓSIDOS

Un mg de extracto agregar HCl al 1% reflujar por 5 minutos, neutralizar con NaOH al 1%, con porciones de 0,5 mL de la solución, realizar la prueba de Benedict.

3. AMINOÁCIDOS

Prueba de Ninhidrina: A 0,5 mL de la solución acidificado , agregar 2 a 3 gotas de la solución Ninhidrina , calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición coloraciones rojizas, verdosas o amarillas indican prueba positiva.

4. FLAVONOIDES

A 0,5 mL de extracto hidroalcohólico agregar algunas partículas de Mg metálico y gotas de HCl concentrado, indican prueba positiva coloraciones rojizas, tendientes al amarillo o azuladas. Las chalconas, auronas, catequina e isoflavonas no dan prueba positiva.

5. COMPUESTOS FENÓLICOS

A 0,5 mL de solución de flavonoide agregar uno o dos gotas de cloruro férrico al 1% la presencia de precipitados o coloraciones azuladas o verdosas indican prueba positiva para compuestos fenólicos

6. QUINONAS

A 0,2 mL del extracto etanólico agregar 0,4 mL de ácido sulfúrico concentrado, coloraciones rojizas indican prueba positiva.

7. RESINAS

A 0,2 mL de extracto etanólico agregar 2 o 3 gotas del reactivo acetato de cobre. Una coloración verde esmeralda indica prueba positiva.

8. ALCALOIDES

Para realizar las pruebas; solubilizar 0,5 g de extracto con HCl al 5%, filtrar y finalmente se realiza el siguiente ensayo:

Reacción de Dragendorff; a 0,5 ml de la solución acida agregar 2 o 3 gotas del reactivo de Dragendorff. La formación de un precipitado naranja o marrón indica presencia de alcaloides.

9. TANINOS

A 0,5 mL de la muestra Adicionar 2 ó 3 gotas de cloruro férrico al 1%, la aparición de coloración o formación del precipitado indica que la prueba es positiva. La coloración azul oscuro indica presencia de taninos gálicos y una coloración verde la presencia de taninos catequicos.

10. SAPONINAS

Prueba de espuma: Aproximadamente 0,1 g del extracto se solubiliza en 5 mL de agua o en 5 mL de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 seg. La formación de espuma persiste por 30 minutos indica presencia de saponinas.

11. LACTONAS

Prueba de Bajlet. Se pone en contacto mg de muestra con 2 o 3 gotas de reactivo (mezcla a y b en volúmenes iguales); una coloración naranja o rojo oscuro es prueba positiva. Bajlet (reactivo a: Acido pícrico al 1% en etanol y reactivo b: KOH al 10%).

Fuente: Prácticas de Farmacobotánica, MCs. Magaly Villena Tejada (32)

ANEXO N° 12

FICHA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

Metabolito Secundario	Reactivo	Cantidad de metabolito secundario presente en el extracto hidroalcohólico
Alcaloides	Dragendorf	
Azucares reductores	Benedict	
	Felhing	
Glicósidos	HCl + Benedict	
Aminoácidos	Ninhidrina	
Flavonoides	Mg + HCl(c)	
Compuestos fenólicos	Sol.(flavonoides)+FeCl ₃ 1%	
Quinonas	H ₂ SO ₄ (c)	
Resinas	Acetato de cobre	
Taninos	FeCl ₃ 1%	
Saponinas	Indice afrocimetrico	
Lactonas	Bajlet	

Fuente: elaboración propia

Interpretación:

Signos	Significado
+++	Abundante cantidad
++	Regular cantidad
+	Poca cantidad
-	No detectable

ANEXO N°13

CUADRO COMPARATIVO DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L. DE DIFERENTES PAISES DE EUROPA

PAÍS	% DE RENDIMIENTO	PLANTA
<i>A. absinthium</i> - (Cusco) ²	0.19	Fresca
<i>A. absinthium</i> (Estonia) ³	1.1 *	Seca
<i>A. absinthium</i> (Francia) ³	1.6*	Seca
<i>A. absinthium</i> (Hungaria) ³	0.3	Seca
<i>A. absinthium</i> (Belgica) ³	0.7	Seca
<i>A. absinthium</i> (Siberia) ³	1.3*	Seca
<i>A. absinthium</i> (Grecia) ³	0.3	Seca
<i>A. absinthium</i> (Ukrania) ³	0.4	Seca
<i>A. absinthium</i> (Escocia) ³	0.8	Seca
<i>A. absinthium</i> (Armenia) ³	0.1	Seca
<i>A. absinthium</i> (Moldova) ³	0.2	Seca
<i>A. absinthium</i> (Lituania) ³	0.4	Seca
<i>A. absinthium</i> (Lituania) ³	0.2	Seca
<i>A. absinthium</i> (Italia) ³	0.8*	Seca
<i>A. absinthium</i> (España) ³	0.1	Seca
<i>A. absinthium</i> (Alemania) ³	0.3	Seca

*porcentaje mas alto de rendimiento de diferentes regiones de ese país

²porcentaje de rendimiento de Ibarra y Tunqui(14).

³ Anne Orava*, Ain Raalb, Elmar Arakb, Mati Müüriseppa, and Tiiu Kailasa (2005)

"Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin"(40)

ANEXO Nº14: EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

FotoNº2: equipo de hidrodestilación

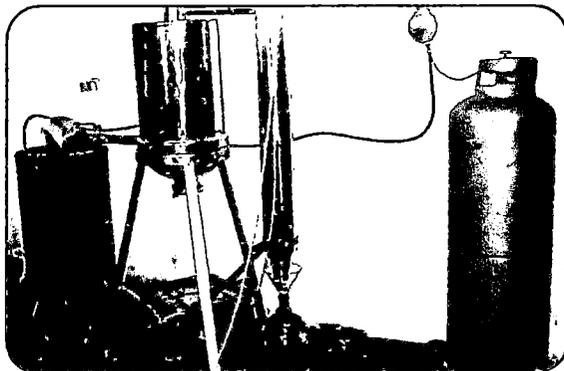


Foto Nº3: colocado de la muestra vegetal al equipo



Foto Nº4: recojo del hidrodestilado agua-aceite.



Foto Nº5: Decantación del agua y el aceite-éter etílico

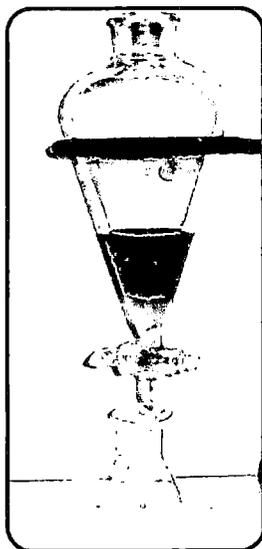


Foto Nº6: Recojo de la mezcla aceite – éter etílico para su posterior separación



Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

ANEXO N°15: ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

Foto N°7: Reflujo de la mezcla potasa alcohólica – aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

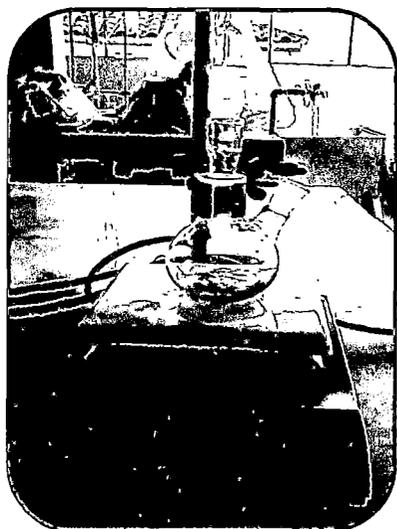


Foto N°8: Reflujo de potasa alcohólica (blanco)

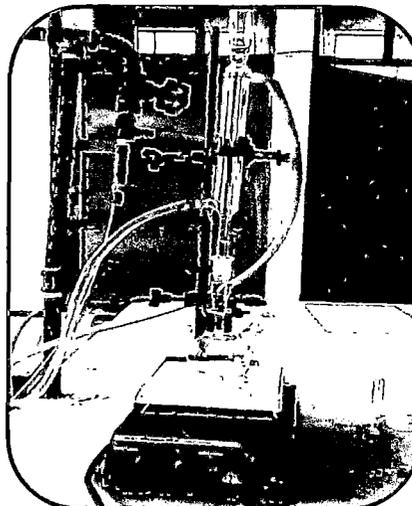


Foto N°9: Titulación de la mezcla potasa alcohólica – aceite esencial

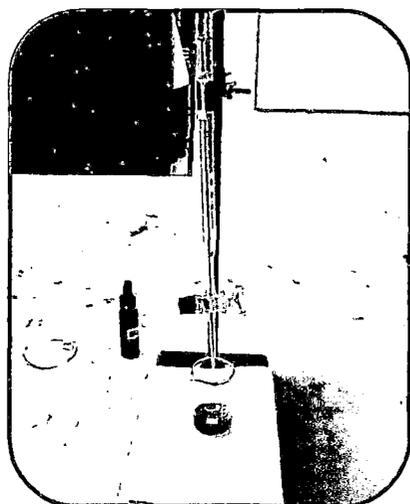


Foto N°10: Titulación de la muestra blanco



Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

ANEXO N°16: ANÁLISIS DE GC-MS

Foto N° 11: Cromatógrafo De Interfaces Agilent 6890N

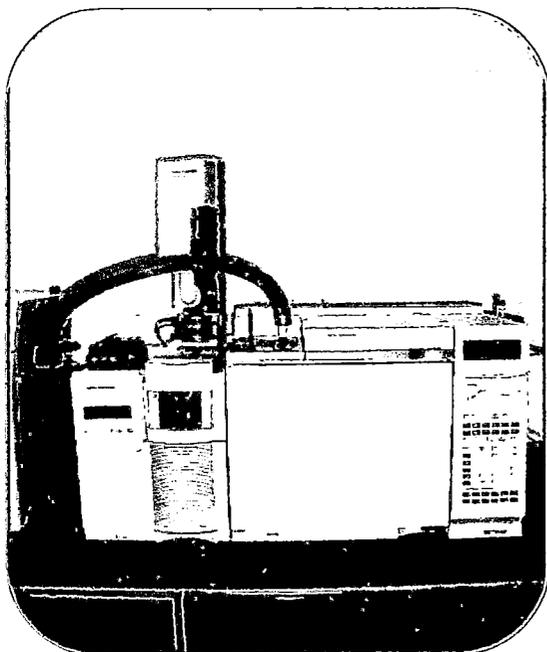


Foto N° 12: Inyección del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.

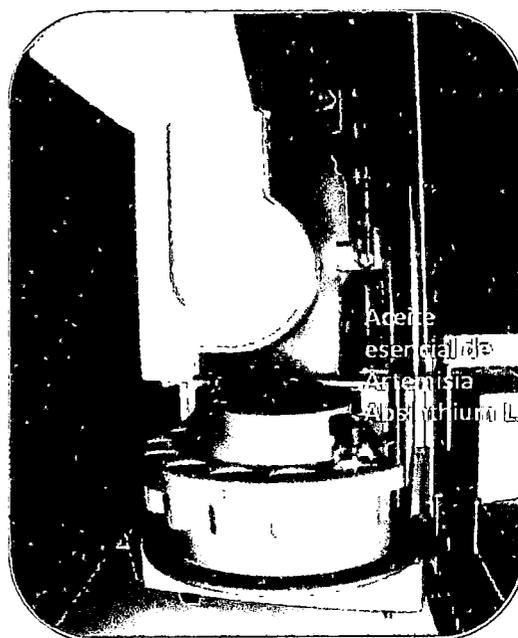
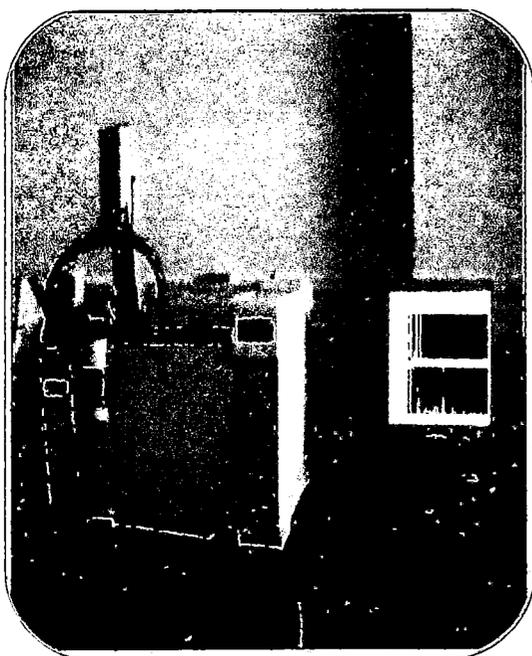


Foto N°13: Corrida del aceite esencial de *Artemisia absinthium* L.



Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

ANEXO N°17: Determinación del Efecto Antiespasmódico por Medición del Tránsito Intestinal

Foto N°14: Formación de los grupos de Experimentación

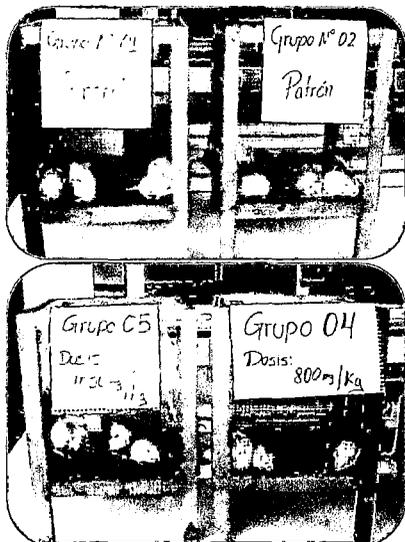


Foto N°15: Administración del extracto o el aceite esencial de *Artemisia absinthium* L. por cánula nasogástrica



Foto N°16: Administración de la solución de carbón activado 2.5%



Foto N°17: Extracción del paquete Intestinal



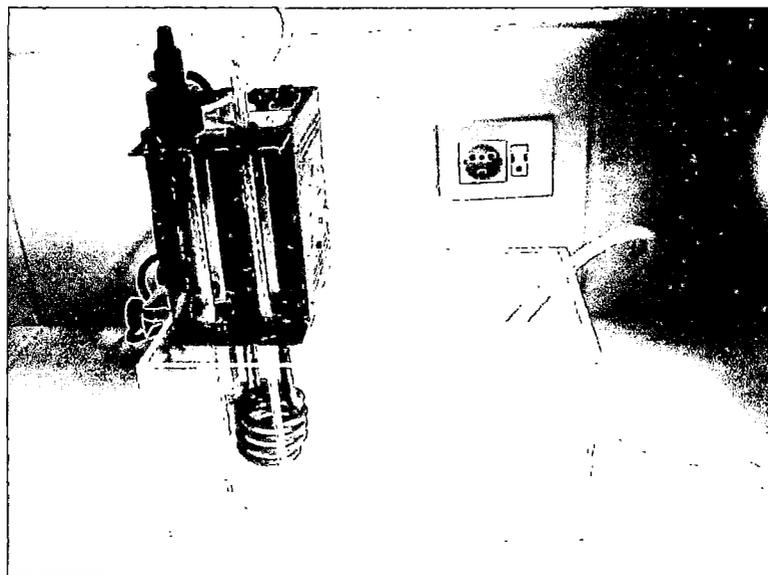
Foto N° 18: Extensión de paquete Intestinal



Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

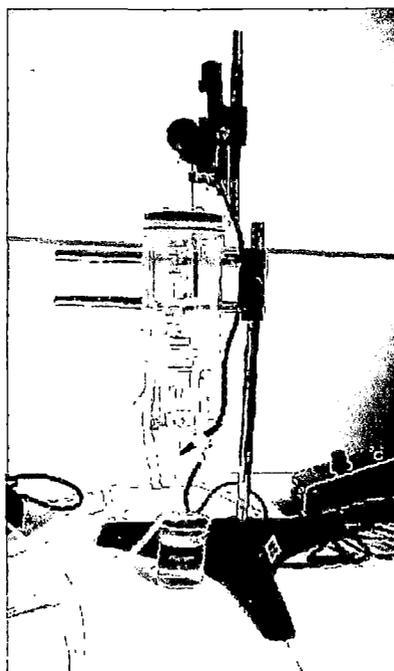
ANEXO N° 18: COMPONENTES DEL EQUIPO DE ORGANOS AISLADOS

Foto N° 19: BAÑO MARÍA CON TERMOSTATO



Termostato conectado al baño maría para mantener la temperatura constante de la copa del baño de órganos ya que es el responsable de la corriente de agua a 37°C que pasa por la copa de baño de órganos.

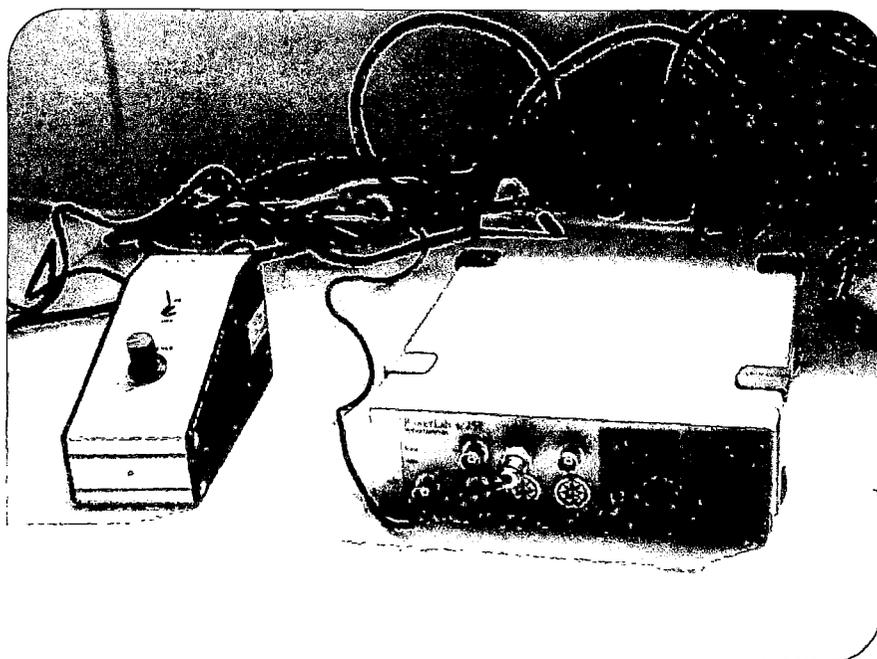
Foto N° 20: COPA DE BAÑO DE ORGANOS



Copa de baño de órganos conectado a la entrada y salida de agua a 37°C proveniente del baño maría y acoplado con el transductor y la varilla para colocar el órgano aislado.

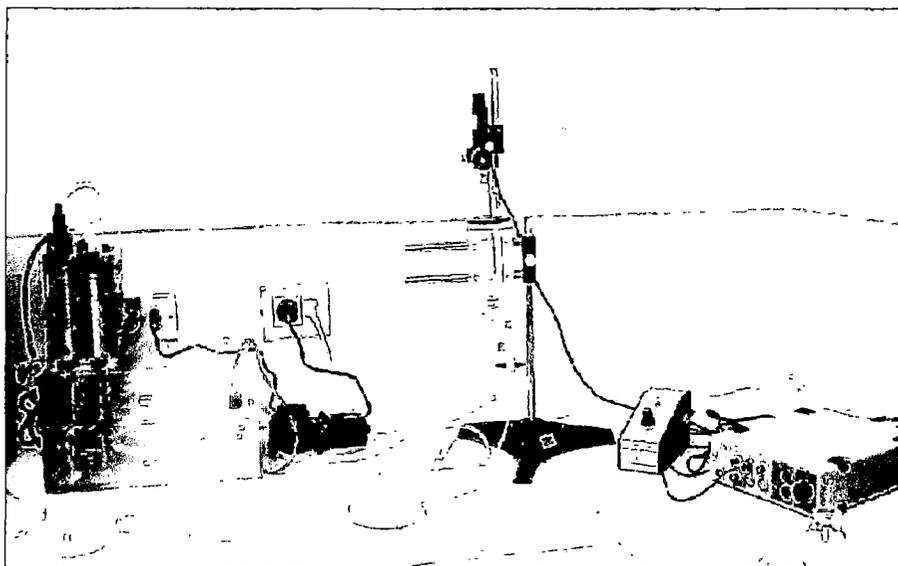
Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

Foto N° 21: BIOAMPLIFICADOR



Amplifica las señales eléctricas de las contracciones del órgano aislado.

Foto N° 22: EQUIPO DE ORGANOS AISLADOS

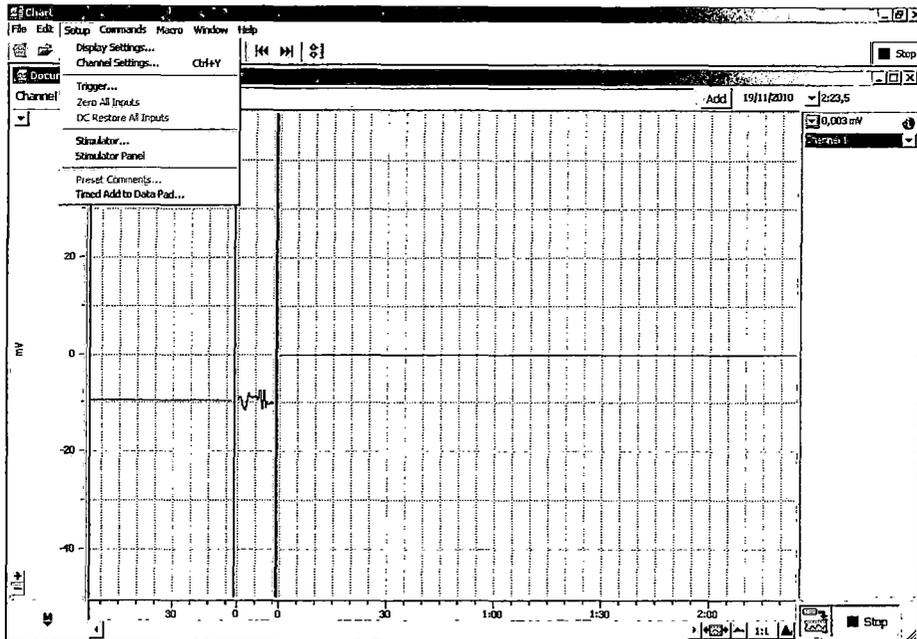


Armado completo del equipo de baño de órganos que está conectado a una computadora.

Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

ANEXO N° 19

CALIBRACIÓN DEL EQUIPO



Verificación de la lectura del equipo sin íleon aislado, observando que no se grafican ninguna interferencia ocasionada por el aire que entrá a la copa del baño de órganos o por el ruido producido por el mismo. Observando una línea recta.

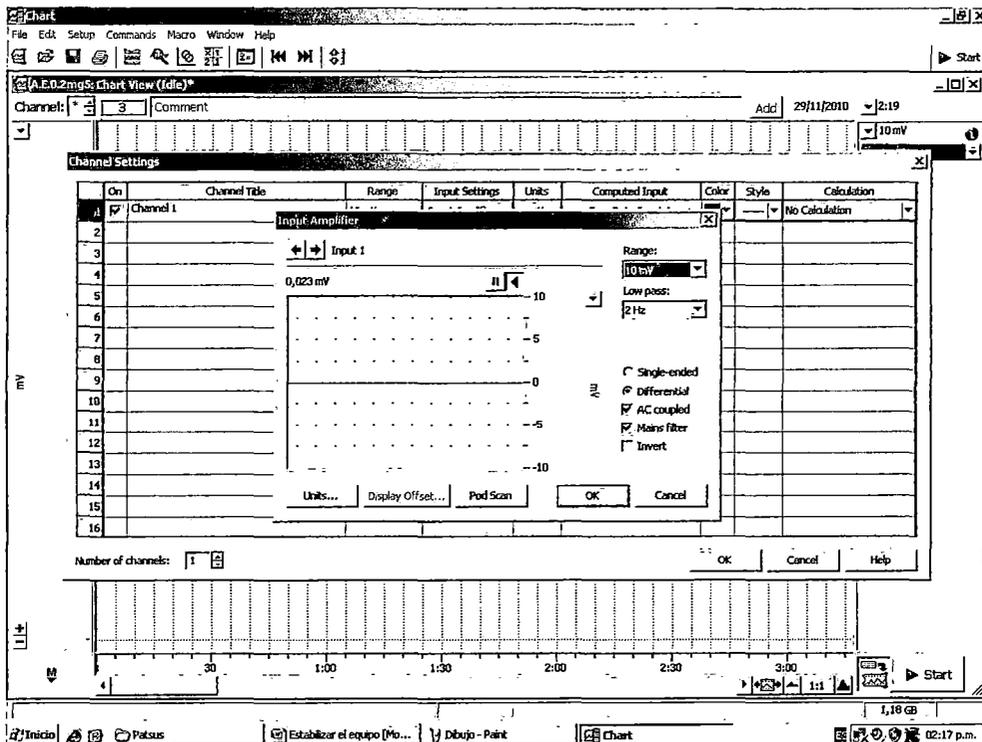
SELECCIÓN DEL CANAL LECTURA

The screenshot shows the 'Channel Settings' dialog box in the software. The dialog has a table with the following columns: 'On', 'Channel Title', 'Range', 'Input Settings', 'Units', 'Computed Input', 'Color', 'Style', and 'Calculation'. Channel 1 is selected, with a range of 10 V and 'Input Amplifier...' as the input setting. The 'Number of channels' is set to 8. The dialog also includes 'OK', 'Cancel', and 'Help' buttons.

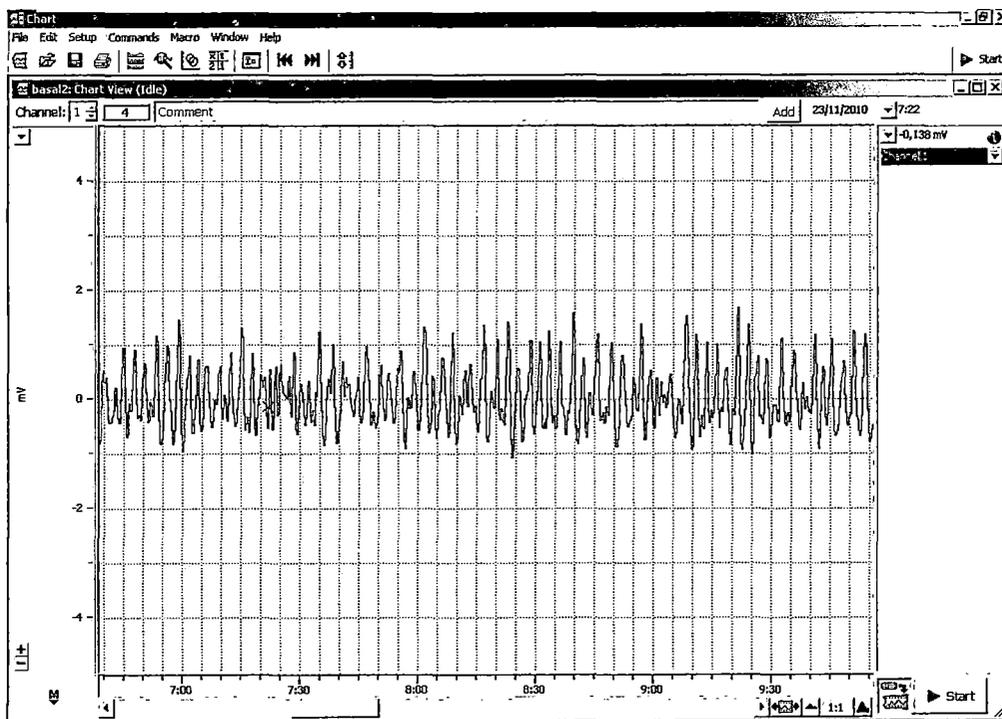
On	Channel Title	Range	Input Settings	Units	Computed Input	Color	Style	Calculation
<input checked="" type="checkbox"/>	Channel 1	10 V	Input Amplifier...	V	Row Data Input 1			No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 2							No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 3							No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 4							No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 5							No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 6							No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 7							No Calculation
<input type="checkbox"/>	Channel 8							No Calculation
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								
<input type="checkbox"/>								

Selección de un solo canal de lectura de los ocho canales que nos ofrece el chart, por tener sólo una copa de baño de órganos.

CALIBRACIÓN DEL EQUIPO PARA ELIMINAR INTERFERENCIA EN LA LECTURA DE LAS CONTRACCIONES



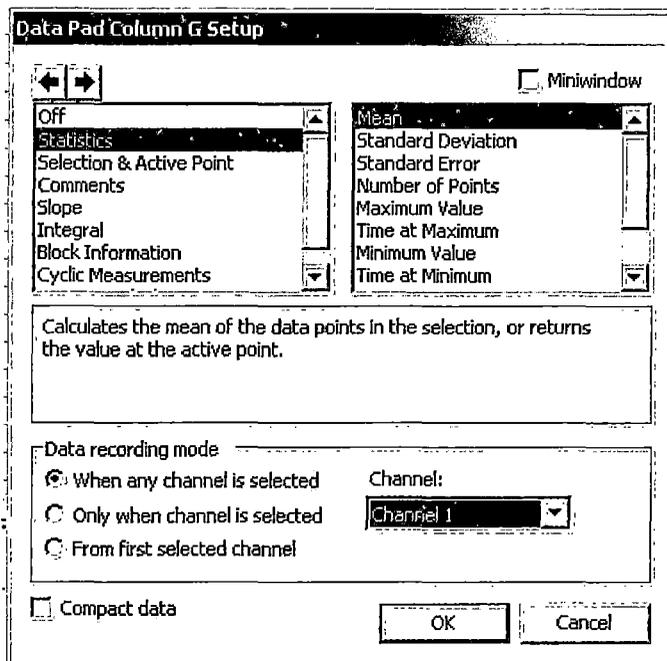
Selección de la amplitud de lectura en mV en escala vertical bipolar, la velocidad de muestreo.



Lectura de las gráficas de las contracciones del ileon aislado de cobayo, después de la calibración. Pudiendo observar la diferencia de lectura entre el equipo sin órgano.

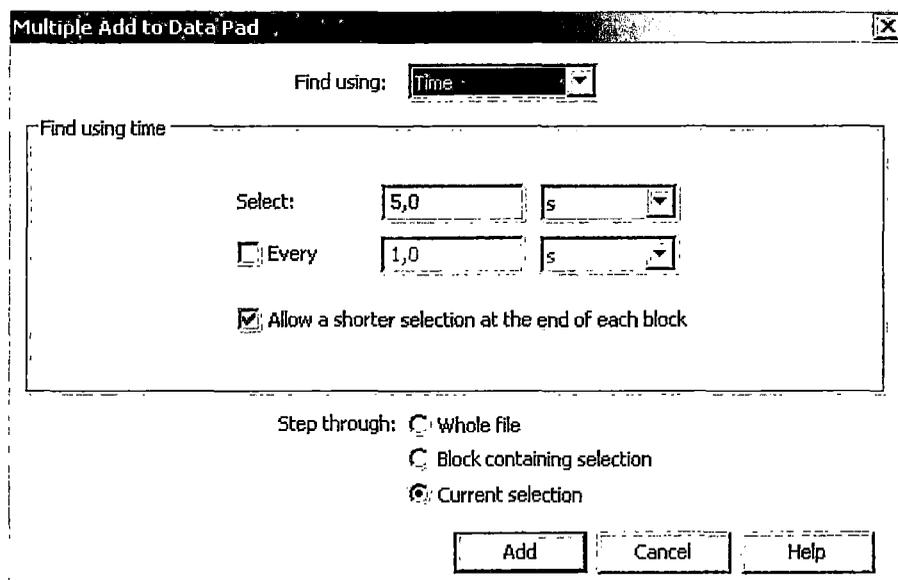
ANEXO N° 20

VISTA DE LA CONFIGURACION DEL DATA PAD



Selección de las características para la lectura de los datos de las contracciones por el Data Pad como los valores de los máximos y mínimos, diferencia de máximos y mínimos del canal seleccionado.

TIEMPO DE MUESTREO



Selección del tiempo de muestreo de los datos tratados por el Data Pad. En nuestro caso cada 5 segundos

ANÁLISIS DE DATOS POR EL DATA PAD

A.E.0.2mg5:Data Pad*						
1121 points from t=14:39,5 to t=19:19,5						
F1		0:14:39,5				
	A Channel 1 Mean mV	B Channel 1 Standard Deviation mV	C Channel 1 Maximum Value mV	D Channel 1 Minimum Value mV	E Channel 1 Max - Min mV	F Time
1	0,0284	0,1527	1,6238	-0,72	2,3438	0:14:39,5
2	Channel 1	Channel 1	Channel 1	Channel 1	Channel 1	
3	Mean	Std Dev	Maximum	Minimum	Max - Min	Time
4	mV	mV	mV	mV	mV	
5	-0,0233	0,4676	1,0947	-0,5294	1,6241	0:00:00,0
6	-0,1334	0,4321	0,9281	-0,8494	1,7775	0:00:05,0
7	0,0937	0,4421	0,9603	-0,6194	1,5797	0:00:10,0
8	0,0956	0,3595	0,9334	-0,2622	1,1956	0:00:15,0
9	0,0019	0,4383	0,805	-0,6434	1,4484	0:00:20,0
10	0,106	0,4896	0,9091	-0,6275	1,5366	0:00:25,0
11	0,0972	0,4609	1,13	-0,59	1,72	0:00:30,0
12	-0,0455	0,28	0,4375	-0,5972	1,0347	0:00:35,0
13	-0,0487	0,3995	0,6591	-0,8866	1,5456	0:00:40,0
14	0,0616	0,521	0,9856	-0,7259	1,7116	0:00:45,0
15	0,1102	0,4059	0,8897	-0,3572	1,2469	0:00:50,0
16	0,0697	0,3403	0,6241	-0,4562	1,0803	0:00:55,0
17	-0,0841	0,3999	0,89	-0,7116	1,6016	0:01:00,0
18	0,1566	0,4855	0,8604	-0,9703	1,8307	0:01:05,0

Resultado del Data Pad donde arroja los datos solicitados tales como los valores mínimos y máximos de las contracciones del leon aislado de cobayo, la diferencia entre máximos y mínimos, el tiempo de muestreo; todos estos del canal seleccionado.

ANEXO N° 21

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE RINGER Y ACETILCOLINA

Foto N°23



Preparación de la solución de Ringer en fioles de 1000 mL y 500 mL, para su almacenamiento en un frasco ambar.

SOLUCIÓN DE RINGER (para 250 mL de solución)	
NaCl p.a	2.1250 g
CaCl p.a	0.1250 g
KCl p.a	0.1000 g
H₂O destilada c.s.p.	250 mL

PREPARACIÓN DE ACETILCOLINA

Para 25 mL de solución se peso 7.3105 mg de ACh y aforar hasta 25 mL con Solución de Ringer.

Para añadir la acetilcolina al baño de órganos, la copa debe tener un volumen de 20 mL, se agrega 200 ul de acetilcolina $2 \times 10^{-3}M$, para obtener una concentración de $2 \times 10^{-5}M$ en la copa.

**ANEXO N° 22: Determinación del Efecto Antiespasmódico en Íleon
Aislado de Cobayo**

**Foto N° 24: Crianza de los
Cobayos**



**Foto N° 25: Extracción de la
porción de íleon**



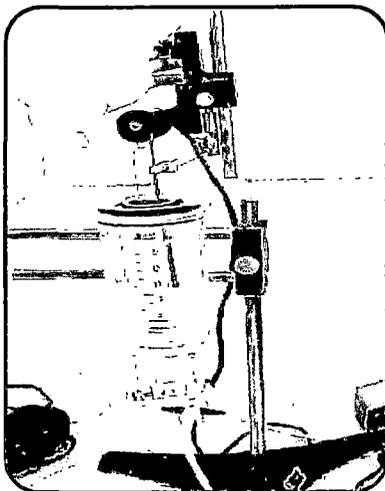
**Foto N° 26: Lavado del
fragmento de íleon**



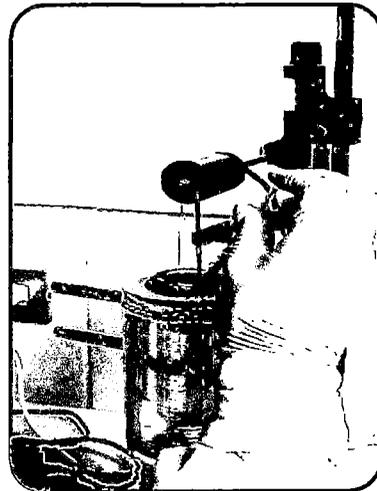
**Foto N° 27: Montaje de
órgano aislado en el baño
de Órganos**



**Foto N° 28: Montaje
completo en el baño de
órganos**



**Foto N° 29: Administración
de las sustancias e evaluar
al baño de órganos**



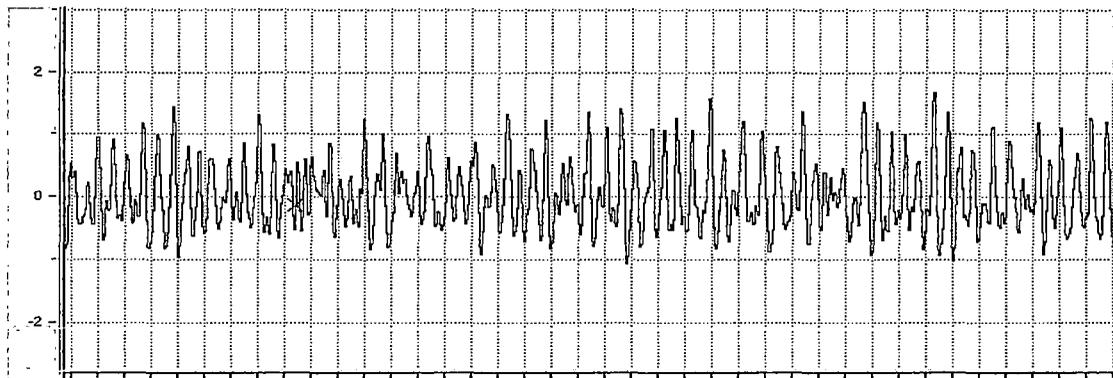
Fuente: Achahui S.; Quispe P.

ANEXO 23

DETERMINACIÓN DE LAS CONTRACCIONES BASALES DEL ÍLEON AISLADO DE COBAYO

Para determinar las contracciones basales del músculo liso intestinal del íleon aislado de cobayo, se calibró el equipo adecuadamente (Anexo 19), cabe resaltar que para cada lectura se utilizó un segmento de íleon diferente

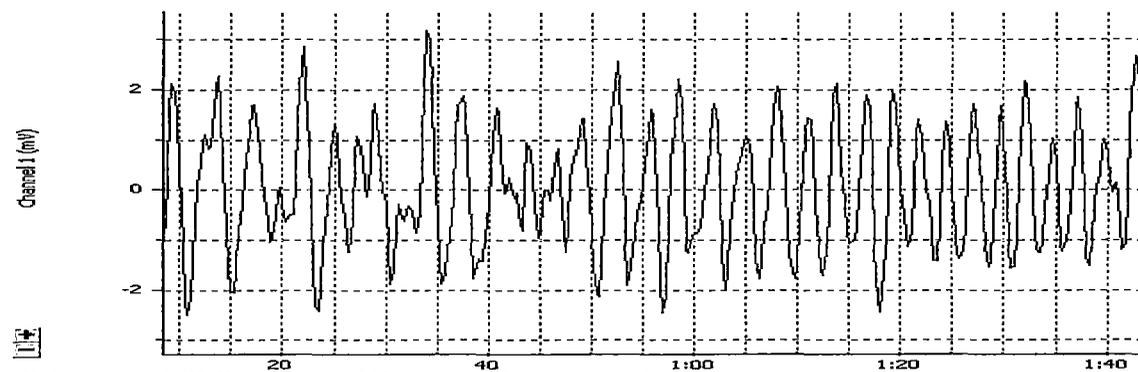
CONTRACCIONES BASALES:



En la figura N° 4.1: observamos las gráficas obtenidas de las contracciones basales de íleon aislado de cobayo

FIGURA N°4.2

CONTRACCIONES BASALES:



En la figura N° 4.2: observamos las gráficas obtenidas de las contracciones basales de íleon aislado de cobayo con la ayuda del zoon del Chart 5.5, visualizando mejor la fuerza de cada contracción en mV. Y el tiempo

Con el DataPad del Chart 5.5 se obtuvo la diferencia entre el valor máximo y el mínimo de la amplitud de las contracciones con un tiempo de muestreo de 5 segundos. Este análisis se realizó para cada lectura.

Fuente: Achahui S.; Quispe P. (2010)

ANEXO N° 24

**DATOS OBTENIDOS EN LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DEL
FÁRMACO PATRÓN (ATROPINA).**

LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ILEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de contracció n
5	1.96	1.01	3.97	2.31	100
10	2.46	1.01	2.65	2.04	100
15	2.78	1.36	3.00	2.38	100
20	3.43	1.06	2.39	2.29	100
25	3.49	1.33	2.21	2.34	100
30	4.68	1.68	1.93	2.77	100
35	3.37	2.58	1.99	2.65	100
40	2.69	2.87	1.69	2.42	100
45	1.81	2.41	1.77	1.99	100
50	3.11	3.26	2.41	2.93	100
55	5.10	3.08	2.98	3.72	100
60	3.38	1.91	3.28	2.85	100
65	1.48	1.76	2.31	1.85	100
70	2.77	2.66	1.71	2.38	100
75	1.21	2.22	2.30	1.91	100
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DEL FÁRMACO PATRÓN : 0.03mg/mL					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de inhibición
80	0.03	0.23	0.13	0.13	94.4
85	0.03	0.24	0.19	0.15	92.4
90	0.02	0.13	0.23	0.13	94.6
95	0.06	0.15	0.19	0.13	94.1
100	0.09	0.16	0.24	0.16	93.1
105	0.09	0.15	0.20	0.15	94.7
110	0.06	0.15	0.20	0.14	94.8
115	0.10	0.18	0.20	0.16	93.5
120	0.12	0.20	0.14	0.15	92.3
125	0.10	0.31	0.31	0.24	91.8
130	0.13	0.13	0.25	0.17	95.4
135	0.07	0.29	0.23	0.20	93.1
140	0.10	0.22	0.43	0.25	86.5
145	0.10	0.13	0.54	0.26	89.3
150	0.14	0.26	0.41	0.27	86.0

ANEXO N°25

**DATOS OBTENIDOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DE
CONCENTRACIÓN 900µg/mL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL
70% DE *Artemisia absinthium* L.**

LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ÍLEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mV)	Segunda Lectura (mV)	Tercera Lectura (mV)	Promedio (mV)	Porcentaje de contracción
5	1,0438	2,0022	1,51	1,519	100.00
10	1,2941	2,3691	1,4438	1,702	100.00
15	2,1634	3,5947	0,5881	2,115	100.00
20	1,1191	2,7675	2,0962	1,994	100.00
25	1,1991	3,1753	2,0762	2,150	100.00
30	1,0531	1,9462	2,8531	1,951	100.00
35	1,2072	1,7675	0,6872	1,221	100.00
40	1,2419	5,7594	2,5706	3,191	100.00
45	0,8944	2,0013	1,5503	1,482	100.00
50	0,9569	3,1834	3,635	2,592	100.00
55	1,1975	2,1972	3,2413	2,212	100.00
60	0,7631	4,4772	1,565	2,268	100.00
65	0,6709	3,2272	2,0238	1,974	100.00
70	0,9487	2,2844	1,4969	1,577	100.00
75	1,1931	4,3812	1,1769	2,250	100.00
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTO: 900µg/mL.					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de inhibición
80	0,1066	0,1366	0,2712	0,171	89.06
85	0,1178	0,1934	0,1341	0,148	90.25
90	0,1162	0,2138	0,0881	0,139	92.15
95	0,1081	0,1884	0,1406	0,146	91.68
100	0,1144	0,3006	0,1659	0,194	92.28
105	0,085	0,2519	0,1788	0,172	91.49
110	0,1387	0,3094	0,1038	0,184	86.40
115	0,1116	0,2119	0,16	0,161	94.80
120	0,1025	0,1944	0,1403	0,146	88.80
125	0,0403	0,2331	0,115	0,129	93.60
130	0,1069	0,3294	0,1156	0,184	92.50
135	0,0941	0,3713	0,1191	0,195	92.68
140	0,0828	0,325	0,1284	0,179	91.59
145	0,1072	0,3038	0,1256	0,179	89.47
150	0,1147	0,2216	0,1556	0,164	92.62

ANEXO N° 26

**DATOS OBTENIDOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DE
CONCENTRACIÓN 1200µg/mL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
AL 70% DE *Artemisia absinthium* L.**

LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ILEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mV)	Segunda Lectura (mV)	Tercera Lectura (mV)	Promedio (mV)	Porcentaje de contracció n
5	0,9487	1,8816	5,6462	2,826	100
10	2,2094	1,4631	6,5459	3,406	100
15	2,5672	2,2366	7,9484	4,251	100
20	1,0947	0,7784	3,5647	1,813	100
25	1,9659	1,8863	4,6928	2,848	100
30	2,08	0,6487	2,9081	1,879	100
35	2,0153	0,9206	1,6803	1,539	100
40	1,4594	1,295	3,9197	2,225	100
45	1,6612	0,9694	2,7916	1,807	100
50	1,8756	0,6503	3,1941	1,907	100
55	1,8034	1,9156	2,5178	2,079	100
60	1,7191	0,9044	3,8669	2,163	100
65	1,8303	0,8634	2,5962	1,763	100
70	1,8734	0,4609	6,8291	3,054	100
75	2,2897	0,9081	9,7872	4,328	100
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTO: 1200µg/mL.					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mV)	Segunda Lectura (mV)	Tercera Lectura (mV)	Promedio (mV)	Porcentaje de inhibición
80	0,1666	0,185	0,1487	0,167	94,1
85	0,2956	0,1731	0,0963	0,188	94,5
90	0,3347	0,1041	0,1331	0,191	95,5
95	0,1728	0,1272	0,1897	0,163	91,0
100	0,2966	0,1141	0,1266	0,179	93,7
105	0,4994	0,0753	0,1278	0,234	87,5
110	0,1453	0,1144	0,1347	0,131	91,5
115	0,1834	0,1681	0,1503	0,167	92,5
120	0,1247	0,1106	0,1019	0,112	93,8
125	0,2022	0,1116	0,1297	0,148	92,2
130	0,5241	0,1091	0,1256	0,253	87,8
135	0,8103	0,0888	0,1041	0,334	84,5
140	0,7562	0,1725	0,1291	0,353	80,0
145	0,6872	0,1209	0,1169	0,308	89,9
150	0,6888	0,2056	0,1472	0,347	92,0

ANEXO 27

**DATOS OBTENIDOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DE
CONCENTRACIÓN 1500µg/mL DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
AL 70% DE *Artemisia absinthium* L.**

LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ILEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mV)	Segunda Lectura (mV)	Tercera Lectura (mV)	Promedio (mV)	Porcentaje de contracción
5	4,4269	2,7534	2,5869	3,256	100
10	5,8937	2,8781	2,1091	3,627	100
15	4,2834	1,5441	1,4538	2,427	100
20	3,7247	2,7922	3,9072	3,475	100
25	7,03	2,2941	1,8791	3,734	100
30	6,42	3,0791	2,495	3,998	100
35	4,7453	2,5387	2,7559	3,347	100
40	3,8672	4,7734	2,0897	3,577	100
45	4,1775	2,8591	2,5056	3,181	100
50	3,0303	1,2391	1,7737	2,014	100
55	2,7662	4,7019	1,8809	3,116	100
60	3,7484	4,6834	2,8666	3,766	100
65	3,6119	4,6312	1,6759	3,306	100
70	5,3078	5,3216	2,4581	4,363	100
75	5,8937	3,4031	2,5328	3,943	100
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTO: 1500µg/mL.					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de inhibición
80	0,11	0,3416	0,2619	0,238	92,7
85	0,2981	0,2141	0,1719	0,228	93,7
90	0,2359	0,1769	0,2066	0,206	91,5
95	0,3309	0,2647	0,2369	0,278	92,0
100	0,2394	0,2406	0,345	0,275	92,6
105	0,2988	0,1519	0,2303	0,227	94,3
110	0,2031	0,1641	0,1066	0,158	95,3
115	0,1403	0,1978	0,2141	0,184	94,9
120	0,2112	0,2391	0,2656	0,239	92,5
125	0,1909	0,1616	0,1853	0,179	91,1
130	0,2378	0,1509	0,2909	0,227	92,7
135	0,3103	0,1928	0,2362	0,246	93,5
140	0,2816	0,2312	0,1509	0,221	93,3
145	0,2334	0,1644	0,1622	0,187	95,7
150	0,1938	0,205	0,2603	0,220	94,4

ANEXO 28

**DATOS OBTENIDOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DE
CONCENTRACIÓN 0.05 mg/mL DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia
absinthium* L.**

LECTURA DE LAS LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ÍLEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de contracció n
5	1,52	1,19	0,95	1,22	100
10	1,64	1,12	0,91	1,41	100
15	2,23	2,38	1,02	1,70	100
20	1,31	1,00	0,91	1,37	100
25	1,58	2,31	1,08	1,79	100
30	1,72	1,39	0,72	1,41	100
35	2,74	2,00	0,47	1,58	100
40	2,23	1,67	0,42	1,86	100
45	1,74	1,91	0,73	1,52	100
50	2,39	1,35	0,79	1,63	100
55	1,96	1,88	0,53	1,48	100
60	1,08	1,47	0,90	1,30	100
65	1,89	1,32	1,35	1,47	100
70	1,45	1,88	0,42	1,27	100
75	1,43	1,64	0,62	1,37	100
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL: 0.05mg/mL					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de inhibición
80	1,25	0,90	0,53	0,80	34,5
85	0,68	1,18	0,39	0,66	53,1
90	0,95	0,83	0,57	0,63	62,9
95	0,69	0,70	0,49	0,59	56,9
100	1,52	0,64	0,53	0,80	55,6
105	1,40	0,68	0,61	0,76	46,1
110	0,86	0,95	0,75	0,69	56,4
115	0,79	1,09	0,52	0,69	62,9
120	1,50	0,86	0,68	0,84	45,0
125	1,06	0,75	0,86	0,75	54,2
130	0,77	0,69	0,72	0,62	57,8
135	1,35	0,85	1,12	0,93	28,3
140	1,37	0,77	0,57	0,79	45,9
145	0,86	0,64	0,50	0,60	53,0
150	0,62	1,02	0,93	0,74	45,7

ANEXO N° 29

DATOS OBTENIDOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DE CONCENTRACIÓN 0.1 mg/mL DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

LECTURA DE LAS LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ÍLEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de contracción
5	1,53	1,13	0,97	1,21	100
10	1,39	1,29	1,22	1,30	100
15	1,44	1,53	1,90	1,62	100
20	1,08	1,26	1,71	1,35	100
25	1,73	1,72	1,56	1,67	100
30	0,93	1,07	1,34	1,11	100
35	1,02	0,96	1,83	1,27	100
40	1,02	0,88	1,21	1,04	100
45	2,04	0,82	1,88	1,58	100
50	1,34	2,26	0,88	1,50	100
55	1,65	1,53	1,64	1,61	100
60	1,52	1,26	1,53	1,44	100
65	1,70	0,89	1,86	1,48	100
70	1,59	1,32	2,08	1,66	100
75	3,05	0,81	3,17	2,34	100
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL: 0.1mg/mL					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de inhibición
80	0,45	0,17	0,16	0,26	78,3
85	0,39	0,23	0,15	0,26	80,3
90	0,34	0,50	0,16	0,33	79,6
95	0,42	0,61	0,40	0,48	64,6
100	0,27	0,45	0,19	0,30	81,8
105	0,32	0,36	0,21	0,29	73,6
110	0,54	0,29	0,15	0,33	74,3
115	0,42	0,37	0,36	0,38	63,0
120	0,50	0,43	0,23	0,38	75,7
125	0,49	0,36	0,18	0,34	77,1
130	0,48	0,52	0,18	0,39	75,5
135	0,45	0,30	0,15	0,30	79,3
140	0,33	0,47	0,30	0,37	75,2
145	0,43	0,38	0,16	0,32	80,6
150	0,41	0,42	0,30	0,38	83,8

ANEXO N° 30

DATOS OBTENIDOS DE LA EXPERIMENTACIÓN EX VIVO DE CONCENTRACIÓN 0.2 mg/mL DEL ACEITE ESENCIAL DE *Artemisia absinthium* L.

LECTURA DE LAS LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES BASALES DE ÍLEON AISLADO DE COBAYO					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de contracción
5	1,39	1,17	1,79	1,45	100
10	1,88	1,43	2,18	1,83	100
15	1,34	1,36	2,23	1,64	100
20	1,35	0,84	1,89	1,36	100
25	1,34	1,06	1,04	1,15	100
30	1,01	1,64	1,87	1,50	100
35	1,08	1,23	1,34	1,22	100
40	1,28	1,04	1,97	1,43	100
45	0,61	1,04	1,63	1,09	100
50	0,63	1,49	1,37	1,16	100
55	1,84	1,48	1,50	1,61	100
60	1,13	1,61	0,88	1,21	100
65	1,13	1,61	1,59	1,44	100
70	2,02	1,13	1,85	1,66	100
75	0,95	2,45	1,64	1,68	100
LECTURA DE LA AMPLITUD DE LAS CONTRACCIONES POSTERIOR A LA ADMINISTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL: 0.2mg/mL					
Tiempo (s)	Primera Lectura (mv)	Segunda Lectura (mv)	Tercera Lectura (mv)	Promedio (mv)	Porcentaje de inhibición
80	0,15	0,04	0,18	0,12	91,6
85	0,14	0,03	0,14	0,10	94,4
90	0,21	0,05	0,18	0,15	91,2
95	0,29	0,05	0,08	0,14	89,6
100	0,08	0,06	0,11	0,08	92,8
105	0,20	0,04	0,13	0,12	91,8
110	0,10	0,03	0,22	0,12	90,4
115	0,18	0,04	0,20	0,14	90,3
120	0,16	0,06	0,15	0,13	88,6
125	0,17	0,04	0,37	0,19	83,5
130	0,13	0,02	0,24	0,13	92,0
135	0,15	0,05	0,37	0,19	84,4
140	0,15	0,03	0,17	0,11	92,1
145	0,18	0,10	0,14	0,14	91,4
150	0,15	0,17	0,31	0,21	87,6

ANEXO N° 31

Se realizo ensayos con grupos de dos ratones para cada dosis evaluada

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>Artemisia absinthium</i> L.			
RATÓN	A	B	C
DOSIS: 100mg/Kg			
R-1	65	54	83.076
R-2	68	60	88.236
DOSIS: 200mg/Kg			
R-3	87	52	77.612
R-4	70	59	84.286
DOSIS: 400mg/Kg			
R-5	73	52	71.232
R-6	68	51	75.000
DOSIS: 600mg/Kg			
R-7	68	37	54.412
R-8	75	42	56.000
DOSIS: 800mg/Kg			
R-9	72	32	44.444
R-10	69	28	40.579
DOSIS: 1000mg/Kg			
R-11	70.5	31	43.972
R-12	73	28.5	39.041

ACEITE ESENCIAL DE <i>Artemisia absinthium</i> L.			
RATÓN	A	B	C
DOSIS: 0.25mg/Kg			
R-1	60	34.5	57.500
R-2	65.5	32.5	49.618
DOSIS: 0.5mg/Kg			
R-3	66.5	28	42.105
R-4	61	26.5	43.442
DOSIS: 1mg/Kg			
R-5	64	28	43.750
R-6	68	27.5	40.441
DOSIS: 2mg/Kg			
R-7	76	28	36.842
R-8	72	24	33.333
DOSIS: 4mg/Kg			
R-9	69	40.5	58.695
R-10	71	47	66.197
DOSIS: 8mg/Kg			
R-11	66	42	63.636
R-12	73	53	72.603

Donde: **A:** Distancia total del intestino (cm), **B:** Distancia recorrida del marcador (carbón activado) (cm), **C:** Porcentaje de avance del marcador (B/A) x100